



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química



Programa de Pós-Graduação em Química
Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos

Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de sulfonamidas empregando eletrodo de diamante dopado com boro

Cristine Durante de Souza Silveira

Florianópolis – SC
2008

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química
Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos

Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de
sulfonamidas empregando eletrodo de diamante dopado com boro

Cristine Durante de Souza Silveira

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Química da
Universidade Federal de Santa Catarina
como um dos requisitos para a obtenção do
Título de Mestre em Química na área de
Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Almir Spinelli
Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Iolanda da Cruz Vieira

Florianópolis – 2008

Cristine Durante de Souza Silveira

**Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica
para a determinação de sulfonamidas empregando
eletrodo de diamante dopado com boro**

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do grau de Mestre em Química, Área de Concentração Química Analítica, Especialidade Eletroanalítica, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 03 de março de 2008.

Prof. Dr. Ademir Neves

(Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Química)

Banca examinadora:

Prof. Dr. Almir Spinelli

(Orientador)

Prof.^a Dr.^a Iolanda C. Vieira

(Co-orientadora)

Prof. Dr. Augusto S. Madureira

(UFSC - Química Analítica)

Prof. Dr. Gustavo A. Mike

(UFSC - Química Analítica)

Prof.^a Dr.^a Marta S. Sierra

(UFSC - Físico-Química)

“Eu quero criar, criar e criar. Não quero me queixar, porque se eu me queixo o meu limite é dado pela pessoa que me queixo, e se eu criar o meu limite é o impossível.”

(Autor desconhecido)

Ao meu marido Jair, pelo amor, pelo companheirismo, pela compreensão, paciência e pelo apoio incansável.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi desenvolvido no Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos (GEPEEA), laboratório 310 do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, sob orientação do Prof. Dr. Almir Spinelli.

Ao Professor Almir Spinelli, pela orientação e incentivo, pelos seus ensinamentos que contribuíram para meu desenvolvimento pessoal e científico.

À Professora Iolanda da Cruz Vieira, pela co-orientação, discussões, ensinamentos e sugestões que muito contribuíram para o fechamento deste trabalho.

Ao Professor Lúcio Angnes (USP-São Paulo) pela discussão dos resultados deste trabalho.

Ao Professor Orlando Fatibello-Filho (UFSCAR) por ter fornecido o eletrodo de diamante dopado com boro e pelas sugestões e comentários sobre este trabalho.

À minha mãe Analíria e meu pai Celso, pelos ensinamentos, incentivos, amizade, respeito, amor e pelas suas críticas que muito contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

Às minhas irmãs Clarisse e Heloísa, por sempre me incentivarem e pelos seus conselhos grandiosos.

Ao meu marido Jair, pela paciência, apoio, carinho, amizade e sugestões dadas durante a elaboração deste trabalho.

À minha amiga Roberta M. De Paula Böhmer, que mesmo longe sempre me apoiou e incentivou e acima de tudo pela amizade.

À minha amiga Ana Karina Timbola, por seu convívio diário, pela colaboração, pela amizade e pelo incentivo nas horas mais difíceis.

Aos amigos do GEPEEA (Otoniel, Silvia, Fernando, Ana Karina, Ivanise e Rodolfo), pelo companheirismo, troca de conhecimentos e pela hora do cafezinho.

Aos meus colegas de curso, sempre trocando idéias e por muitas conversas prazerosas.

Ao químico Ângelo Adolfo Ruzza, por ter se prontificado a realizar as medidas de HPLC.

A todos os professores do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina pelos ensinamentos repassados.

À CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de Mestrado concedida.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu MUITO OBRIGADA.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Sulfonamidas	1
1.1.1 Histórico.....	1
1.1.2 Estrutura química.....	2
1.1.3 Propriedades físico-químicas.....	3
1.1.4 Mecanismo de ação.....	6
1.1.5 Aspectos clínicos e de saúde pública.....	7
1.2 Métodos de separação	7
1.3 Métodos eletroanalíticos	10
1.3.1 Eletrodo de diamante dopado com boro	13
1.4 Técnicas eletroanalíticas	15
1.4.1 Voltametria cíclica.....	16
1.4.2 Voltametria de onda quadrada	17
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3. PARTE EXPERIMENTAL	21
3.1 Reagentes e soluções	21
3.2 Célula e eletrodos.....	21
3.3 Equipamentos.....	22
3.4 Procedimento para o pré-tratamento catódico do eletrodo BDD.....	23
3.5 Procedimento para a determinação das sulfonamidas em formulações farmacêuticas	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1 Eletrodo comercial de diamante dopado com boro	24
4.1.1 Efeito do pré-tratamento superficial do eletrodo BDD.....	24

4.2 Eletrodo não comercial de diamante dopado com boro.....	30
4.2.1 Estudos com as sulfonamidas	30
4.2.1.1 Efeito do pré-tratamento catódico do eletrodo BDD	30
4.2.1.2 Resposta eletroquímica das sulfonamidas sobre diferentes eletrodos	31
4.2.1.3 Seleção do eletrólito suporte.....	32
4.2.2 Estudos com a sulfadiazina.....	33
4.2.2.1 Comportamento voltamétrico da sulfadiazina	33
4.2.2.2 Influência da velocidade de variação de potencial (v).....	35
4.2.2.3 Influência do pH da solução	39
4.2.2.4 Otimização dos parâmetros para voltametria de onda quadrada (VOQ)	41
4.2.2.5 Curva analítica para a sulfadiazina	44
4.2.2.6 Estudo de repetibilidade.....	45
4.2.2.7 Determinação da sulfadiazina em formulação farmacêutica e comparação com o método oficial	47
4.2.2.8 Estudo de recuperação	47
4.2.3 Estudos com a sulfametoxazol.....	48
4.2.3.1 Comportamento voltamétrico da sulfametoxazol e trimetoprima	48
4.2.3.2 Influência da velocidade de variação de potencial (v).....	51
4.2.3.3 Influência do pH da solução	54
4.2.3.4 Otimização dos parâmetros para voltametria de onda quadrada (VOQ)	55
4.2.3.5 Curva analítica para a sulfametoxazol	58
4.2.3.6 Estudo de repetibilidade.....	60
4.2.3.7 Determinação da sulfametoxazol em formulação farmacêutica e comparação com o método oficial	61
4.2.3.8 Estudo de recuperação	62
5. CONCLUSÃO	63
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	68

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Ag/AgCl	eletrodo de prata/cloreto de prata
ΔE_p	variação do potencial de pico
$\Delta E_{p/2}$	largura do pico a meia altura
ΔE_s	incremento de varredura de potencial
ΔH	altura de pulso
μA	microampére
μL	microlitro
μm	micrômetro
$\mu g L^{-1}$	micrograma por litro
B	coeficiente angular
BDD	eletrodo de diamante dopado com boro (do inglês “boron-doped diamond electrode”)
CE	contra eletrodo
CVD	deposição química a partir da fase vapor (do inglês “chemical vapour deposition”)
CV	eletrodo de carbono vítreo
DPR	desvio padrão relativo
E	potencial
ECS	eletrodo de calomelano saturado
Er	erro relativo
ER	eletrodo de referência
E_{pa}	potencial de pico anódico
f	frequência
HPHT	alta pressão/alta temperatura (do inglês “high-pressure/high-temperature”)
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês “high-performance liquid chromatography”)
Hz	Hertz
i	corrente de pico
i_{pa}	corrente de pico anódica

i_{pc}	corrente de pico catódica
LD	limite de detecção
LQ	limite de quantificação
mg	miligrama
mV	milivolt
min	minuto
mmol L ⁻¹	milimol por litro
nmol L ⁻¹	nanomol por litro
ng L ⁻¹	nanograma por litro
PABA	ácido <i>p</i> -aminobenzóico (do inglês “ <i>p</i> -aminobenzoic acid”)
<i>r</i>	coeficiente de correlação
s	segundo
S _b	desvio padrão
V	volt
<i>v</i>	velocidade de variação de potencial
VOQ	voltametria de onda quadrada

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química geral das sulfonamidas.....	2
Figura 2. Estrutura química do ácido sulfanílico e seu íon.....	2
Figura 3. Reação das sulfonamidas com NaOH.....	3
Figura 4. Estrutura química do ácido <i>p</i> -aminobenzóico (PABA).....	7
Figura 5. Variação do potencial com o tempo em voltametria cíclica.....	17
Figura 6. Forma de aplicação do potencial na VOQ.....	18
Figura 7. Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde (1) representa um processo redox de um sistema reversível e (2) de um sistema irreversível.....	19
Figura 8. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} 50/50 v/v para $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo comercial BDD. Com o pré-tratamento em H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}	25
Figura 9. Voltamogramas de onda quadrada para a sulfadiazina $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} 50/50 v/v com o eletrodo comercial BDD; $f = 100 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$. Com o pré-tratamento em H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}	26
Figura 10. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} 50/50 v/v para $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo comercial BDD. Com o pré-tratamento em HNO_3 1,0 mol L^{-1}	27
Figura 11. Voltamogramas de onda quadrada para a sulfadiazina $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} 50/50 v/v com o eletrodo comercial BDD; $f = 100 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$. Com o pré-tratamento em alumina 0,05 μm	28
Figura 12. Voltamogramas de onda quadrada em diferentes concentrações para a sulfadiazina (a) $1,96 \times 10^{-5}$, (b) $9,90 \times 10^{-6}$, (c) $4,76 \times 10^{-5}$, (d) $3,85 \times 10^{-5}$, (e) $5,66 \times 10^{-5}$, (f) $7,41 \times 10^{-5}$, (g) $6,54 \times 10^{-5}$ e (h) $2,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em etanol/ H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} 50/50 v/v com o eletrodo comercial BDD. Inserção: Dependência da corrente em função da concentração de sulfadiazina. Com o pré-tratamento em alumina 0,05 μm	29
Figura 13. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} 50/50 v/v para $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	31
Figura 14. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} 50/50 v/v para $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com os eletrodos BDD não comercial, platina, ouro e carbono vítreo.....	32

Figura 15. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos suporte em $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	33
Figura 16. Voltamogramas cíclicos: (a) sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (b) branco, $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	34
Figura 17. Esquema de oxidação para a sulfadiazina.....	35
Figura 18. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 (v/v) para diferentes velocidades de variação de potencial (ν): (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 50, (e) 75 e (f) 100 mV s^{-1} com o eletrodo não comercial BDD.....	36
Figura 19. Influência de ν sobre E_{pa} para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	37
Figura 20. Variação do $\log i$ com o $\log \nu$ para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	37
Figura 21. Variação de i com $\nu^{1/2}$ para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	38
Figura 22. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/solução fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v; em pH (2,3; 4,1; 6,1; 7,6; 8,8 e 11,0); $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	39
Figura 23. Variação de E_{pa} em função do pH para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/solução fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v.....	40
Figura 24. Influência do pH na resposta da corrente de pico para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v.....	41
Figura 25. Dependência da corrente de pico com a frequência para a sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	42
Figura 26. Dependência da corrente de pico com o incremento de varredura para a sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	43
Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada usando o eletrodo não comercial BDD para a sulfadiazina nas concentrações de (a) $2,91 \times 10^{-5}$, (b) $3,85 \times 10^{-5}$, (c) $4,76 \times 10^{-5}$, (d) $5,66 \times 10^{-5}$, (e) $6,54 \times 10^{-5}$, (f) $7,41 \times 10^{-5}$, (g) $8,26 \times 10^{-5}$ e (h) $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 40 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	44
Figura 28. Curva analítica obtida para a sulfadiazina em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v.....	45

Figura 29. Voltamogramas cíclicos (a) trimetoprima $3,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (b) sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (c) branco, $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	49
Figura 30. Voltamogramas cíclicos da (a) trimetoprima e (b) sulfametoxazol ambos $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v em (A) pH 2,5; (B) pH 6,0 e (C) pH 10,5; $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	50
Figura 31. Voltamogramas de onda quadrada do comprimido (a) de sulfametoxazol $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ + trimetoprima e (b) após a adição de $100 \mu\text{L}$ de uma solução estoque $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de sulfametoxazol, em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 10 \text{ Hz}$, $\Delta H = 20 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	51
Figura 32. Voltamogramas cíclicos da sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v para diferentes velocidades de variação de potencial (ν): 10, 20, 30, 50, 75 e 100 mV s^{-1} com o eletrodo não comercial BDD.....	52
Figura 33. Esquema de oxidação da sulfametoxazol.....	52
Figura 34. Influência de ν sobre E_{pa} para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	53
Figura 35. Variação do $\log i$ com o $\log \nu$ para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	53
Figura 36. Variação de i com $\nu^{1/2}$ para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	54
Figura 37. Voltamogramas cíclicos da sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/solução fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com pH 2,5; 6,9 e 10,5; $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	55
Figura 38. Dependência da corrente de pico com a frequência para a sulfametoxazol (A) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (B) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, com o eletrodo não comercial BDD.....	56
Figura 39. Dependência da corrente de pico com o incremento de varredura para a sulfametoxazol (A) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (B) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.....	56
Figura 40. Voltamogramas de onda quadrada usando o eletrodo não comercial BDD para a sulfametoxazol em (A) nas concentrações de (a) $9,90 \times 10^{-5}$, (b) $1,96 \times 10^{-4}$, (c) $2,91 \times 10^{-4}$, (d) $3,85 \times 10^{-4}$, (e) $4,76 \times 10^{-4}$, (f) $5,66 \times 10^{-4}$ e (g) $6,54 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em	

etanol/H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ 50/50 (v/v), $f = 10$ Hz, $\Delta H = 10$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV e (B) nas concentrações de (a) $1,48 \times 10^{-5}$, (b) $1,97 \times 10^{-5}$, (c) $2,94 \times 10^{-5}$, (d) $3,88 \times 10^{-5}$, (e) $4,81 \times 10^{-5}$, (f) $5,71 \times 10^{-5}$ e (g) $6,67 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L ⁻¹ 50/50 (v/v) pH 5,7, $f = 50$ Hz, $\Delta H = 20$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV.....	59
Figura 41. Curva analítica para a sulfametoxazol em (A) etanol/H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ 50/50 (v/v) e (B) etanol/tampão fosfato 0,05 mol L ⁻¹ 50/50 (v/v) pH 5,7.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sulfonamidas mais usadas em formulações farmacêuticas.....	4
Tabela 2. Parâmetros de VOQ investigados para a sulfadiazina.....	43
Tabela 3. Repetibilidade das correntes medidas no potencial de oxidação para a sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 40 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	46
Tabela 4. Determinação da sulfadiazina* (mg) em produto farmacêutico.....	47
Tabela 5. Estudo de recuperação da sulfadiazina em produto farmacêutico.....	48
Tabela 6. Parâmetros de VOQ investigados para a sulfametoxazol.....	57
Tabela 7. Repetibilidade das correntes medidas no potencial de oxidação para a sulfametoxazol $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 20 \text{ Hz}$, $\Delta H = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com o eletrodo não comercial BDD.....	61
Tabela 8. Determinação da sulfametoxazol* (mg) em produto farmacêutico.....	62
Tabela 9. Estudo de recuperação da sulfametoxazol em produto farmacêutico.....	62

RESUMO

A sulfadiazina e a sulfametoxazol foram eletroanaliticamente quantificadas utilizando a voltametria de onda quadrada (VOQ) com o eletrodo de diamante dopado com boro (BDD). A determinação eletroanalítica da sulfadiazina foi feita em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v, e a determinação da sulfametoxazol foi feita em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v em pH 5,7. As sulfas apresentaram somente um pico de oxidação em aproximadamente +1,1 V/ECS com características irreversíveis, o qual foi utilizado como resposta analítica. A curva analítica foi obtida no intervalo de concentração de 2,91x10⁻⁵ a 9,09x10⁻⁵ mol L⁻¹ (r = 0,9995) para a sulfadiazina e de 9,90x10⁻⁵ a 6,54x10⁻⁴ mol L⁻¹ (r = 0,9954) em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e 1,48x10⁻⁵ a 6,67x10⁻⁵ mol L⁻¹ (r = 0,9967) em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ para a sulfametoxazol. O limite de detecção foi 2,51x10⁻⁶ mol L⁻¹ para a sulfadiazina e 2,95x10⁻⁵ e 2,52x10⁻⁷ mol L⁻¹ para a sulfametoxazol. Soluções padrão dos compostos estudados foram adicionadas em soluções preparadas de produtos farmacêuticos. A recuperação variou de 95 a 104% para ambas sulfonamidas, indicando a não interferência da matriz sobre os resultados analíticos. A exatidão da metodologia eletroanalítica desenvolvida foi também comparada com o método oficial (HPLC). O erro relativo percentual entre o método oficial e o método proposto foi de -4,31% para a sulfadiazina e +0,79% para a sulfametoxazol. Os dados sugerem que o método desenvolvido pode ser usado alternativamente ao método oficial para determinação eletroanalítica de sulfas em formulações farmacêuticas e outros produtos.

Palavras-chave: sulfonamidas, eletrodo de diamante dopado com boro, voltametria de onda quadrada.

ABSTRACT

Sulfadiazine and sulfamethoxazole were electroanalytically quantified by square-wave voltammetry (SWV) at a boron-doped diamond (BDD) electrode. The determination of sulfadiazine was obtained in an ethanol/0.5 mol L⁻¹ H₂SO₄ 50/50 (v/v) solution and sulfamethoxazole in an ethanol/pH 5.7 phosphate buffer 50/50 (v/v) solution. Both sulfonamides showed a well-resolved irreversible oxidation peak at around +1.1 V/SCE, which was used as analytical response. Excellent calibration curves were obtained in the concentration ranges of 2.91x10⁻⁵ to 9.09x10⁻⁵ mol L⁻¹ (r = 0.9995) for sulfadiazine and 9.90x10⁻⁵ to 6.54x10⁻⁴ mol L⁻¹ (r = 0.9954) in an ethanol/0.5 mol L⁻¹ H₂SO₄ and 1.48x10⁻⁵ a 6.67x10⁻⁵ mol L⁻¹ (r = 0.9967) in an ethanol/pH 5.7 phosphate buffer for sulfamethoxazole. Detection limits of 2.51x10⁻⁶ mol L⁻¹ were found for sulfadiazine and 2.95x10⁻⁵ and 2.52x10⁻⁷ mol L⁻¹ were found for sulfamethoxazole. Standard solutions of studied compounds were spiked in real samples prepared from tablets of commercial pharmaceutical products. The recovery varied from 95 to 104% for both sulfonamides in all analyzed real samples, indicating no interferences of matrixes on the analytical results. The accuracy of the developed electroanalytical methodology was also compared to HPLC official method. Percent relative error between the official and proposed methods was -4.31% for sulfadiazine and +0.79% for sulfamethoxazole. The data suggest a potential and interesting alternative method for electroanalytical determination of sulfa drugs in pharmaceutical and other products.

Keywords: sulfonamides, boron-doped diamond electrode, square-wave voltammetry.

Esta dissertação foi dividida da seguinte maneira: Capítulo 1 com uma parte introdutória e uma revisão bibliográfica sobre sulfonamidas; Capítulo 2 com os objetivos gerais e específicos; Capítulo 3 descreve os procedimentos experimentais para a realização do trabalho; Capítulo 4 com os resultados deste estudo, bem como a discussão dos mesmos e o Capítulo 5 com as conclusões.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Sulfonamidas

1.1.1 Histórico

O surgimento das sulfonamidas ou sulfas é um dos estudos mais fascinantes e importantes da química medicinal. A primeira sulfonamida a ser sintetizada foi a sulfanilamida, em 1908, por Gelmo quando preparou-a como parte de um programa de pesquisa de novos corantes azóicos. A partir de então, foi utilizada como produto intermediário na indústria de corantes. Sua atividade antibacteriana foi descoberta um quarto de século mais tarde. Somente na década de 1930, quando Domagk foi o primeiro a demonstrar que um agente quimioterápico era capaz de influenciar o desenvolvimento de uma infecção bacteriana. A droga era o prontossil, um corante que demonstrou ser uma pró-droga inativa *in vitro*, que precisava ser metabolizada *in vivo* para gerar o produto ativo sulfanilamida. Por esta descoberta Domagk recebeu o prêmio Nobel, em 1938. O primeiro ensaio clínico do prontossil foi feito na filha de Domagk, que havia contraído uma septicemia estreptocócica por ter acidentalmente espetado o dedo com uma agulha de costura contaminada.¹⁻⁴

Outro passo importante no estudo das sulfonamidas foi quando Woods e Fildes, em 1940, levantaram a hipótese de que a atividade antibacteriana da sulfanilamida se devia ao antagonismo competitivo com o ácido *p*-aminobenzoico, que é uma vitamina ou fator de crescimento para a maioria das bactérias.¹

Fazendo um retrospecto das sulfonamidas não há dúvidas que, além de constituírem o primeiro tratamento eficaz nas infecções bacterianas, estas provocaram uma revolução na quimioterapia ao introduzir e concretizar o conceito de antagonismo metabólico, que tem sido muito útil na Química Farmacêutica para explicar o

mecanismo de ação de muitos fármacos e para planejar racionalmente novos agentes terapêuticos.¹

1.1.2 Estrutura química

As sulfonamidas ou sulfas possuem como estrutura química a fórmula geral apresentada na figura 1.

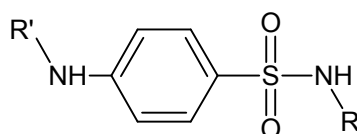


Figura 1. Estrutura química geral das sulfonamidas.

São derivadas do ácido sulfanílico, que existe tanto na forma neutra quanto na forma ionizada, como mostrado na figura 2.¹

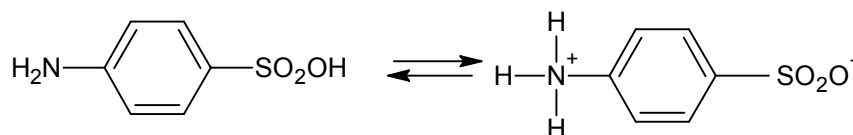


Figura 2. Estrutura química do ácido sulfanílico e seu íon.

O grupo $p\text{-NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{-}$ é chamado sulfanilil, o grupo $p\text{-NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{-NH-}$ sulfanilamido e o grupo $\text{-SO}_2\text{-NH}_2$ é chamado sulfamil. Para a manutenção da atividade antibacteriana, a estrutura fundamental das sulfonamidas não pode ser modificada, sendo o nitrogênio sulfonamídico designado por N1 e o nitrogênio anilínico designado por N4. Pode-se explicar isto pelo fato de que as sulfonamidas são antagonistas competitivas do ácido p -aminobenzóico (figura 4) e, portanto, sua estrutura deve ser muito semelhante à desse metabólito essencial; devendo possuir as seguintes características: anel benzênico com apenas dois substituintes orientados em posição *para*, um grupo 4-amino (ou grupos com azo, nitro, ou amino substituídos que, *in vivo*,

liberam 4-amino) e um grupo 1-sulfonamida substituído (exceto as sulfonas e algumas sulfas especiais).

Fármacos relacionados às sulfonilamidas, que não possuam sua estrutura fundamental, podem exercer ação antibacteriana, mas através de mecanismo diferente.¹ As sulfonamidas mais usadas estão apresentadas na tabela 1, assim como as sulfonamidas estudadas neste trabalho. As sulfonamidas estudadas neste trabalho são comumente conhecidas como sulfadiazina e sulfametoxazol. A sulfadiazina é usada na forma livre e como sal sódico. Possui ampla aplicação como agente sistêmico antibacteriano. Em oftalmologia é usada no tratamento de tracoma e toxoplasmose ocular. A sulfametoxazol é uma das sulfas mais eficazes no tratamento de infecções urinárias, por ter lenta absorção e excreção, apresenta maior tendência a produzir níveis sanguíneos excessivos e causar cristalúria (formação de cristais na urina). Algumas combinações farmacêuticas de sulfonamidas são comercializadas com o propósito de reduzir a incidência de cristalúria. Uma boa associação sinérgica é a sulfametoxazol com trimetoprima, esta combinação potencializa o efeito bacteriostático da sulfa, pois possui efeito inibidor em mais de uma etapa na seqüência de reações enzimáticas obrigatórias nas bactérias.¹⁻⁴

1.1.3 Propriedades físico-químicas

As sulfonamidas são pós cristalinos brancos, geralmente pouco solúveis em água. Sendo ácidos fracos, formam sais com bases. Abaixo está exemplificada a reação das sulfonamidas com uma base, no caso hidróxido de sódio (NaOH).

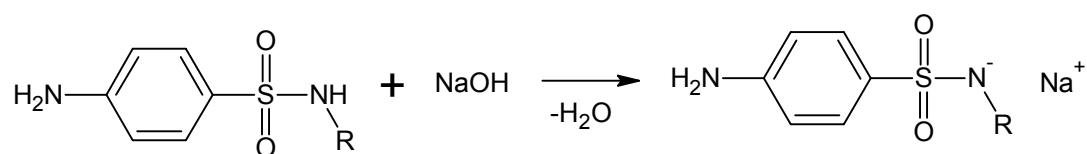
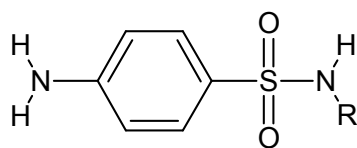


Figura 3. Reação das sulfonamidas com NaOH.

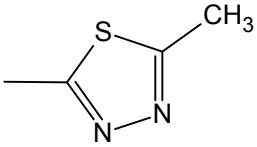
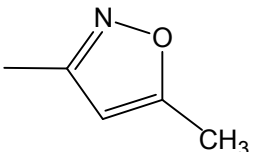
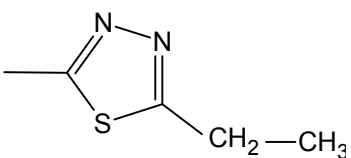
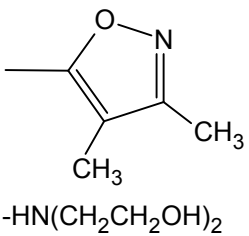
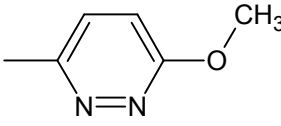
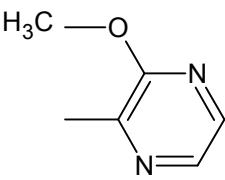
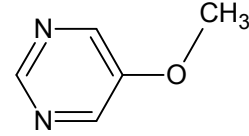
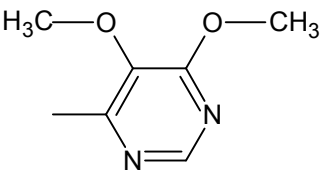
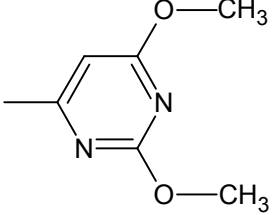
Estes sais são mais solúveis na água do que as sulfonamidas livres. Já que os sais sódicos das sulfonamidas (com exceção da sulfacetamida sódica) possuem pH elevado, quando injetados precipitam no sangue como ácidos livres, causando danos aos tecidos.¹

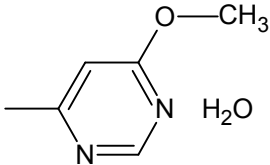
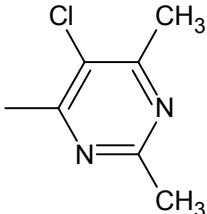
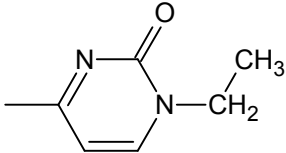
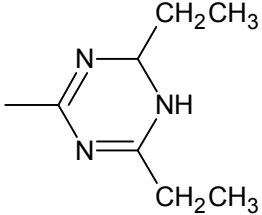
Tabela 1. Sulfonamidas mais usadas em formulações farmacêuticas.



Sulfa

Nome usual	Nome comercial	Nome IUPAC	R
Sulfacetamida (sulfacil)	Albucid Neosulfazon (associação) Uromix (associação)	N-[4-aminofenil] sulfonil- acetamida	—COCH ₃
Sulfapiridina		4-amino-2-N-piridinilbenzenossulfonamida	
Sulfadiazina	Sulfadiazina	4-amino-2-N-pirimidinilbenzenossulfonamida	
Sulfamerazina	Sulfationin (associação) Tetraseptil (associação)	4-amino-N-(4-metil-2-pirimidinil)benzenossulfonamida	
Sulfadimidina	Sulfationin (associação) Tetraseptil (associação)	4-amino-N-(4,6-dimetil-2-pirimidinil)benzenossulfonamida	
Sulfacloropiridazina	Mictasol (associação)	4-amino-N-(6-cloro-3-piridazinil)benzenossulfonamida	

Sulfametizol	Albumicina (associação)	4-amino-N-(5-metil-1,3,4- tiadiazol-2-il) benzenossulfonamida	
Sulfametoxazol	Gantanol Bactrin (associação)	4-amino-N-(5-metil-3- isoxazolil) benzenossulfonamida	
Sulfaetidol		4-amino-N-(5-etil-1,3,4- tiadiazol-2-il) benzenossulfonamida	
Sulfafurazol	Gantrisin	4-amino-N-(3,4-dimetil-5- isoxazolil) benzenossulfonamida com 2,2'-imino-bisetanol	
Sulfametoxipiridazina	Lederkyn Lentosulfina	4-amino-N-(6-metoxi-3- piridazinil) benzenossulfonamida	
Sulfalena	Kelfizina Longum	4-amino-N-(3- metoxipirazinil) benzenossulfonamida	
Sulfametoxidiazina	Sulfanicol	4-amino-N-(5-metoxi-2- pirimidinil) benzenossulfonamida	
Sulfadoxina	Fanasulf	4-amino-N-(5,6-dimetoxi-4- pirimidinil) benzenossulfonamida	
Sulfadimetoxina	Madribon	4-amino-N-(2,6-dimetoxi-4- pirimidinil) benzenossulfonamida	

Sulfamonometoxina	4-amino-N-(6-dimetoxi-4-pirimidinil) benzenossulfonamida monohidratada	
Sulfacloimida	4-amino-N-(5-cloro-2,6-dimetil-4-pirimidinil) benzenossulfonamida	
Sulfacitina	4-amino-N-(1-etil -1,2-diidro-2-oxo-4-pirimidinil) benzenossulfonamida	
Sulfasimazina	4-amino-N-(4,6-dietil-1,3,5-triazin-2-il) benzenossulfonamida	

1.1.4 Mecanismo de ação

As sulfonamidas são capazes de inibir uma variedade de bactérias interferindo em uma reação bioquímica particular (síntese do ácido fólico) que é essencial para sobrevivência das mesmas.¹⁻⁴

As sulfonamidas devem sua atividade quimioterápica à competição com o ácido *p*-aminobenzóico (PABA; figura 4) na síntese do ácido fólico. As sulfonamidas são análogos estruturais do PABA, a principal diferença consiste na presença de um grupo ácido carboxílico no PABA e um grupo sulfona na sulfonamida. O PABA está envolvido na síntese do ácido fólico, um importante precursor da síntese de ácidos nucleicos. Devido a semelhança, as sulfonamidas podem competir com o PABA na síntese do ácido fólico e formar análogos não funcionais do ácido fólico, impedindo o crescimento da célula bacteriana. Assim como as bactérias, os mamíferos também

necessitam do ácido fólico como fator essencial para seu crescimento, mas este pode ser obtido através de fontes exógenas, como a alimentação.^{2,3}

O efeito da sulfonamida pode ser inibido pela adição de PABA em excesso. Este é o motivo pelo qual alguns anestésicos, por exemplo, a procaína, não devem ser aplicados durante o tratamento com sulfas, pois estes anestésicos produzem PABA.³

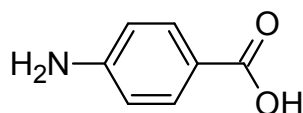


Figura 4. Estrutura química do ácido *p*-aminobenzóico (PABA).

1.1.5 Aspectos clínicos e de saúde pública

O número de produtos farmacêuticos comerciais contendo sulfonamidas é superior a 50, incluindo sulfonamidas sistêmicas, intestinais, urinárias, oftálmicas e para usos especiais, classificadas de acordo com a aplicação terapêutica.¹ Além disso, podem ser encontradas como resíduos em alimentos de origem animal como carnes, leite e ovos e são comumente incorporadas, com funções profiláticas e terapêuticas, em alimentos para animais. Supõe-se que 150 sulfonamidas diferentes já tenham sido comercializadas desde sua descoberta, sendo as modificações efetuadas destinadas a obter maior potência antibacteriana, espectro antibacteriano mais amplo, maior solubilidade na urina e ação mais prolongada. As sulfonamidas constituem, hoje em dia, um dos grupos de agentes antibacterianos mais largamente utilizados no mundo, devido, em grande parte, a seu baixo custo e eficácia em doenças bacterianas comuns.³

1.2 Métodos de separação

O método oficial de análises para as sulfonamidas, baseados na farmacopéia americana⁵ é a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou do inglês “high-performance liquid chromatography”, sigla HPLC).

Em função disso, vários trabalhos publicados empregam a técnica de HPLC para a determinação de sulfonamidas, e ainda a utilizam como parâmetro de comparação para a validação de metodologias.

Kennedy e colaboradores⁶ fizeram uma revisão sobre o uso da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa para a análise de resíduos de antibióticos e antibacteriostáticos em carne e leite, incluindo a classe das sulfonamidas.

Furasawa e Kichida⁷ propuseram um método simplificado para o monitoramento de rotina do resíduo de sete sulfonamidas (sulfadiazina, sulfamerazine, sulfadimidine, sulfamonometoxina, sulfametoxazol e sulfaquinoxaline) em leite, usando a técnica de HPLC. O limite de detecção para as sete sulfonamidas foi de 0,005 – 0,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Koesukwiwat e colaboradores⁸ desenvolveram um método de cromatografia líquida acoplado à espectrometria de massa para a determinação simultânea de resíduos de seis sulfonamidas, três tetraciclinos e pirimetamina em leite. Das amostras de leite foram feitas extrações utilizando o copolímero Oasis HLB com extração em fase sólida e analisados por cromatografia líquida acoplado à espectrometria de massa com modo íon positivo. Os limites de detecção para as sulfonamidas estudadas foram de 0,48 – 2,64 ng mL^{-1} e os limites de quantificação de 0,61 – 8,64 ng mL^{-1} . Os valores de recuperação variaram de 72,01 – 97,39%.

Feltrin e colaboradores⁹ determinaram o teor de sulfadimetoxina em leite por HPLC, utilizando cartuchos comerciais C-8 na extração das sulfas (sulfatiazol, sulfametazina e sulfadimetoxina). Nas condições de análise, a presença de interferentes impediu a quantificação da sulfatiazol e da sulfametazina. O limite de detecção obtido para a sulfadimetoxina foi de 4,59 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Coque e colaboradores¹⁰ propuseram um procedimento de HPLC com pré-coluna de azocorante para derivatização, para analisar as sulfonamidas (sulfacetamida de sódio, sulfadiazina, sulfaguanidina, sulfamezarina, sulfametizol, sulfametoxazol, sulfanilamida e sulfatiazol) em preparações farmacêuticas. A derivatização melhorou a resolução dos cromatogramas e aumentou a seletividade nas determinações de mistura de sulfonamidas e nas preparações contendo outras drogas. Foi obtido um limite de detecção de 0,02 – 0,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e recuperação de 94 – 107 %.

Takeda e Akiyama¹¹ determinaram oito sulfonamidas (sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfaquinoxalina, sulfisomidina, sulfamonometoxina, sulfadimidina, sulfamerazina e sulfadimetoxina) em carnes, através da técnica de HPLC em uma coluna C-18 com detecção de fluorescência, como fase móvel solução acetonitrila/ácido

acético 2% (3/5). Obtiveram uma recuperação de 92,6 % com coeficiente de variação de 6,2 %. O limite de detecção foi 0,01 ng/g para a sulfaquinoxalina e 0,005 ng/g para as outras sete sulfonamidas.

Von Baer¹² e colaboradores fizeram a detecção de algumas sulfonamidas e seus N4-acetil-metabólitos em soro e urina. As sulfonamidas foram detectadas em uma coluna C-18 utilizando cromatografia líquida e um detector amperométrico com um eletrodo de CV em comparação com detector UV em 258 nm. As sulfonamidas foram detectadas em um potencial de +1,0 V, e seus N4-acetil-metabólitos em +1,25 V. Para a sulfametoxazol e sulfametoxipiridazina a curva analítica apresentou linearidade de $1,5 \times 10^{-7} - 8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, e o estudo de recuperação dessas substâncias em amostra de soro foi de 92,6 – 97,6 % e 80,5 – 99,4 % em amostra de urina. O limite de detecção foi dez vezes mais baixo para o detector amperométrico quando comparado ao detector UV.

Amini e Ahmadiani¹³ desenvolveram um método simples e reprodutível de HPLC para a determinação simultânea de sulfametoxazol e trimetoprima em plasma humano. A cromatografia foi feita em uma coluna C-18, em condição isocrática e como fase móvel solução aquosa de dihidrogenofosfato de sódio 0,05 mol L⁻¹/acetonitrila/trietilamina 100/25/0,5 v/v, pH 5,9. A precisão do método foi de 2,6 – 9,8%, com faixa de concentração de 0,125 – 2 µg mL⁻¹ para a trimetoprima e 0,39 – 50 µg mL⁻¹ para a sulfametoxazol. O limite de quantificação dessas substâncias em plasma foi de 0,125 e 0,39 µg mL⁻¹ para a trimetoprima e sulfametoxazol, respectivamente.

Botitsi e colaboradores¹⁴ desenvolveram e validaram um método analítico para a determinação simultânea de formulações farmacêuticas de diferentes classes terapêuticas, incluindo cinco sulfonamidas e trimetoprima com propriedades antimicrobianas e diclofenaco com propriedade antiinflamatória em efluentes de origem hospitalar. A técnica utilizada foi a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa. Com o método os autores obtiveram um limite de detecção na faixa de 7,0 – 10 ng L⁻¹. Diclofenaco, trimetoprima e sulfametoxazol foram facilmente determinados na faixa de concentração de 10 – 400 ng L⁻¹.

Rao e colaboradores¹⁵ empregaram HPLC com detector amperométrico contendo o eletrodo BDD para determinação de três drogas (sulfadiazina, sulfamerazina e sulfametazina). O eletrodo BDD forneceu dados reprodutíveis, apresentou voltamogramas cíclicos bem definidos para as três drogas estudadas e uma baixa corrente de fundo quando comparado ao eletrodo de CV. O limite de detecção

encontrado foi de 50 nmol L^{-1} e a faixa linear dinâmica de $0,05 - 500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. O eletrodo de diamante exibiu uma resposta amperométrica altamente reprodutível, com uma variação de pico de $\sim 5\%$ mesmo com concentrações baixas de sulfonamidas tais como 100 nmol L^{-1} .

Preechaworapun e colaboradores¹⁶ desenvolveram um trabalho semelhante ao de Rao¹⁵, na determinação de quatro sulfonamidas (sulfadiazina, sulfametazina, sulfadimetoxina e sulfamonometoxina) em amostras de ovos. As sulfonamidas foram eletroquimicamente investigadas usando o eletrodo BDD e voltametria cíclica. A comparação dos experimentos foi feita usando eletrodo de CV. As sulfonamidas apresentaram um pico irreversível de oxidação em aproximadamente $+1,1 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. As determinações foram feitas utilizando HPLC com detector amperométrico e apresentaram um limite de detecção na faixa de $0,011 - 0,032 \text{ mg L}^{-1}$ e recuperação de $90,0 - 107,7\%$.

1.3 Métodos eletroanalíticos

As sulfonamidas, de acordo com sua estrutura química, podem ser oxidadas (grupo amino primário $-\text{NH}_2$) e reduzidas (grupo sulfamil $-\text{SO}_2\text{NHR}$).¹⁷ O potencial no qual o grupo sulfonamida é reduzido depende da natureza do grupo R, por outro lado, devido à posição do grupo amino, o grupo R tem pouca influência sobre os potenciais de oxidação.¹⁸ Essa importante informação pode ser explorada na identificação, separação e determinação por métodos eletroanalíticos desses compostos com grupos R diferentes. A literatura relata poucos trabalhos explorando esta propriedade. Entretanto, a redução eletroquímica das sulfonamidas foi mais investigada que a oxidação, talvez pelo fato de que a natureza do grupo R exerça forte influência sobre o potencial de redução.

Diaz e colaboradores¹⁹ estudaram o comportamento polarográfico da sulfadiazina, sulfamerazina e sulfametazina em tampão Britton-Robinson. Estes compostos apresentaram um pico de redução bem definido e diferenciados em polarografia de pulso diferencial, com valores de potencial de pico de -700 , -790 e -1140 mV , respectivamente, em meio ácido (pH aproximadamente 2). O comportamento das sulfonamidas variou de acordo com o pH. Entretanto, quando 2 ou 3 desses compostos estavam presentes, o sinal obtido em polarografia de pulso diferencial não

foi de acordo com a sobreposição do sinal dos compostos sozinhos. Esse fato foi explicado pela interação química destes compostos, quando apresentados juntos. A sobreposição dos potenciais de pico inviabilizou a determinação de misturas de sulfonamidas por polarografia de pulso diferencial. Contudo, os métodos multivariados resolveram este problema. As sulfonamidas foram determinadas em produtos veterinários e farmacêuticos e os resultados encontrados através do método multivariado foram comparados com os resultados obtidos por HPLC. Os limites de detecção obtidos foram 0,124; 0,101 e 0,196 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para sulfadiazina, sulfamerazina e sulfametazina, respectivamente.

Kotoucek e colaboradores²⁰ estudaram o mecanismo de redução polarográfica da salazosulfapiridina, sulfametoxazol e trimetoprima em meio aquoso em diferentes pHs usando DC-polarográfico modelo OH-102 com eletrodo de mercúrio gotejante (do inglês “dropping mercury electrode” sigla DME) e com gota de mercúrio pendente (do inglês “hanging mercury drop electrode”, sigla HMDE). A determinação desses compostos foi feita em tabletes utilizando voltametria de pulso diferencial e voltametria de redissolução adsorbtiva, e foi dependente do pH do meio. Para concentrações menores que 60 ng mL^{-1} o desvio padrão relativo foi menor que 5 % e o limite de detecção de 0,2 – 0,5 ng mL^{-1} . Os resultados encontrados para as análises dos tabletes estavam de acordo com o declarado pelo fabricante.

Msagati e Ngila¹⁸ fizeram a determinação voltamétrica de várias sulfonamidas com eletrodo de CV modificado com o polímero poli(3-metiltiofeno). O polímero poli(3-metiltiofeno) foi eletroquimicamente sintetizado na superfície do eletrodo de CV usando voltametria cíclica (+ 0,5 a + 2,0 V vs. Ag/AgCl). A técnica de VOQ com redução catódica (0,0 a -4,0 V vs. Ag/AgCl) foi usada para a determinação de uma mistura de sete sulfonamidas. Os limites de detecção foram $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para sulfadiazina, $3,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para sulfamerazina, $6,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para 5-sulfaminouracil, $3,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para sulfametazina, $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para sulfasalazina, $6,4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para sulfatiazol e $4,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para sulfametoxazol.

Sabry²¹ em seu trabalho demonstrou a aplicação da 2-acetilbutirolactona como um novo reagente analítico na polarografia e análises voltamétricas de drogas contendo amino-compostos através da formação de α -arilhidrazono- γ -butirolactona. As características eletroquímicas da α -arilhidrazono- γ -butirolactona sobre o eletrodo de mercúrio foram atribuídas ao sítio eletro ativo, o centro azometina do tipo hidrazona. Dentre os amino-compostos estudados estavam a sulfadiazina e a sulfametoxazol,

analisadas em formulações farmacêuticas, amostras de plasma humano e urina. Os métodos desenvolvidos apresentaram um nível de quantificação abaixo de 8 ng mL⁻¹ com desvio padrão relativo de 2,4 – 4,6% para os estudos de recuperação.

Momberg e colaboradores²² utilizaram o eletrodo de CV para o estudo e determinação eletroquímica de algumas sulfonamidas e o ácido sulfanílico. Estes compostos apresentava um processo de oxidação envolvendo 2 elétrons e conduzindo à formação da iminobenzoquinona como produto final. Os autores constataram que o potencial de oxidação das sulfonamidas foi altamente dependente do pH e utilizavam-se deste argumento para a separação dos picos de oxidação das sulfonamidas. A voltametria de pulso diferencial foi empregada para a quantificação de sulfaguanidina em tabletes, obtendo-se uma linearidade na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ – $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão Britton Robinson, pH 7,0. O limite de detecção foi de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Após os estudos voltamétricos os autores separaram sete sulfonamidas por HPLC em compararam com a técnica de detecção UV. Foi obtido um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para a sulfaguanidina através da técnica de HPLC, já o limite de detecção obtido usando UV foi maior do que o encontrado por detecção voltamétrica e por HPLC para a mesma sulfa estudada.

Carrazon e colaboradores²³ fizeram o estudo eletroanalítico do processo de oxidação da sulfadiazina em eletrodo de CV usando diferentes técnicas voltamétricas. A corrente limite foi controlada por difusão das espécies na faixa de concentração estudada. A técnica de voltametria de pulso diferencial e o eletrodo de CV foram usados em uma faixa de concentração de $1,5 \times 10^{-5}$ – $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para a determinação de sulfadiazina em produtos farmacêuticos.

Carrazon e colaboradores²⁴ realizaram o estudo eletroanalítico da sulfamerazina em eletrodo de CV usando diferentes técnicas voltamétricas. A corrente limite foi controlada por difusão das espécies em pH 7,0, para a faixa de concentração de $2,0 \times 10^{-5}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Os limites de detecção encontrados para a técnica de voltametria de pulso diferencial com o eletrodo estacionário e com o eletrodo rotatório foram de $5,9 \times 10^{-6}$ e $3,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente.

1.3.1 Eletrodo de diamante dopado com boro

Os estudos eletroquímicos e fotoeletroquímicos dos eletrodos de diamante iniciaram-se com Pleskov²⁵ em 1987. Desde então, eletrodos de filmes de diamante microcristalinos dopados com boro, nitrogênio, metais ou grupos metálicos foram extensivamente utilizados devido ao seu desempenho eletroquímico ser superior ao de outras matérias, tais como, carbono vítreo, grafite e platina.

O diamante foi sintetizado pela primeira vez em 1905 por Burton,²⁶ mas somente em 1963 o boro foi incorporado ao diamante a alta pressão/alta temperatura para produzir um material com características semicondutoras.²⁷ Contudo, Pofert e colaboradores,²⁸ em 1973, com a intenção de crescer filmes com propriedades semicondutoras, foram os primeiros a crescer diamante dopado com boro a baixas pressões, a partir da mistura B_2H_6/CH_4 , usando grãos de diamante natural como substrato.

O diamante em seu estado natural é um dos melhores isolantes presentes na natureza, mas suas propriedades variam de acordo com a dopagem, com isso, a resposta eletroquímica dos eletrodos de diamante depende do nível de dopagem.²⁹⁻³¹ Os filmes de diamante possuem propriedades eletrônicas que vão desde isolantes em baixas dopagens, para semicondutor ou até mesmo comportamento semimetálico, em altos níveis de dopagem.³² As vantagens destes eletrodos incluem alta resistência à corrosão e dureza; grande faixa de potencial de trabalho (-3,0 a +3,0 V) para a maioria dos solventes e eletrólitos; alta inércia química e eletroquímica; baixa sensibilidade ao oxigênio dissolvido; correntes residuais ou de fundo pequenas e estáveis, o que resulta numa excelente razão sinal/ruído; atividade eletroquímica reprodutível sem pré-tratamento e alta condutividade elétrica e térmica.³³⁻³⁷ Sendo assim, os filmes de diamante dopados com boro podem ser usados em eletrossíntese,³⁸⁻⁴¹ no tratamento de efluentes⁴²⁻⁴⁵ e em eletroanálises.⁴⁶⁻⁴⁸

O empenho na proposição e estudos dos métodos para a síntese de filmes de diamante deu-se devido ao interesse no uso deste material nas mais variadas áreas, graças a estas propriedades. Os dois métodos básicos para a síntese de diamante são: a deposição química a partir da fase vapor (do inglês “chemical vapour deposition”, sigla CVD) e o crescimento a alta pressão/alta temperatura (do inglês “high-pressure/high-

temperature”, sigla HPHT), sendo este último o que mais se assemelha ao processo de formação do diamante natural.

Com o intuito de propor e aprimorar métodos que pudessem ser viáveis economicamente e de grande versatilidade para a síntese de diamantes dopados, foi desenvolvido o processo CVD, o qual é o principal método para a síntese de diamantes dopados com boro. O método CVD baseia-se na deposição de um filme BDD em diferentes substratos, inclusive no próprio diamante, sob condições termodinamicamente metaestáveis, a partir da ativação de uma fase gasosa introduzida num reator. Os substratos mais utilizados são: silício, tungstênio, molibdênio, titânio, grafite e carbono vítreo e os reatores são: reatores com ativação por filamento quente de tungstênio, plasma de microondas, plasma de radiofrequência, chama de óxido de acetileno, dentre outros. A mistura gasosa mais utilizada na síntese do diamante é a de metano diluída em hidrogênio, mas é possível utilizar outras substâncias orgânicas como fonte de carbono, como o metanol, acetona e o etanol. Pequenas frações de oxigênio, ou ainda compostos halogenados, podem ser utilizados com o objetivo de aumentar a taxa de crescimento e aumentar a qualidade final dos filmes crescidos.⁴⁹ O elemento químico dopante, no caso o boro, geralmente é proveniente do gás $B(OCH_3)_3$ ⁵⁰ ou B_2H_6 ^{51,52} numa concentração que varia entre 10 – 20000 ppm, fornecendo um material com propriedades semicondutoras ou semimetálicas, dependendo do teor de boro utilizado.²⁸

Com o aprimoramento do método de dopagem dos filmes de diamante CVD uma ampla faixa de aplicações abriu-se, mas somente na década de 90 despertou-se o interesse destes filmes para aplicações eletroquímicas.

Codognoto e colaboradores⁵³ usaram o eletrodo BDD juntamente com a técnica de VOQ na determinação analítica do pentaclorofenol. Após a otimização das condições experimentais, o pentaclorofenol foi analisado em água pura (Milli-Q) e natural coletada do Rio Monjolinho da cidade de São Carlos, SP, Brasil usando tampão Britton-Robinson pH 5,5 como eletrólito suporte. A oxidação ocorreu no potencial de +0,8 V vs. Ag/AgCl envolvendo a transferência de dois elétrons e processo controlado por adsorção das espécies. O limite de detecção em água pura foi de 5,5 e 15,5 $\mu g L^{-1}$ em água natural.

Pedrosa e colaboradores⁵⁴ desenvolveram uma metodologia para a determinação do 4-clorofenol em águas naturais utilizando a voltametria de onda quadrada e o eletrodo BDD. O 4-clorofenol foi analisado em tampão Britton-Robinson pH 6,0, com

um pico de oxidação em +0,8 V vs. Ag/AgCl envolvendo a transferência de dois elétrons e processo controlado por adsorção das espécies. Os limites de detecção obtidos com o eletrodo BDD foram de $6,4 \mu\text{g L}^{-1}$ em água pura (Milli-Q) e para as águas naturais no intervalo de 16,2 - 21,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ coletadas de três pontos diferentes da cidade de São Carlos, SP, Brasil. No primeiro ponto a amostra foi coletada do poço artesiano do Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE), no segundo ponto a amostra foi coletada no Córrego do Gregório antes de cortar a cidade (próximo a nascente) e, finalmente, no terceiro ponto a amostra foi coletada do Córrego Monjolinho próximo à residências e criadouro de animais, onde o rio já recebe dejetos da cidade.

Pedrosa e colaboradores⁵⁵ estudaram o comportamento voltamétrico do 4-nitrofenol em meio aquoso sobre o eletrodo BDD usando a VOQ. O estudo foi feito em tampão Britton-Robinson pH 6,0. Nestas condições observou-se somente um pico de oxidação em torno de +1,1 V vs. Ag/AgCl com transferência de dois elétrons e um processo controlado por adsorção de espécies na superfície do eletrodo. O limite de detecção em água pura (Milli-Q) foi de $2,8 \mu\text{g L}^{-1}$. Este resultado foi comparado com o obtido nas mesmas condições utilizando o pico de redução do 4-nitrofenol em torno de -0,8 V vs. Ag/AgCl obtendo um limite de detecção de $4,2 \mu\text{g L}^{-1}$. Os dois valores obtidos para o limite de detecção estão dentro do limite máximo de 4-nitrofenol em águas permitido pela legislação para água potável ($30 \mu\text{g L}^{-1}$).

1.4 Técnicas eletroanalíticas

A química eletroanalítica compreende um conjunto de métodos analíticos quantitativos baseados nas propriedades elétricas de uma solução do analito quando ele faz parte de uma célula eletroquímica. Envolve medidas de parâmetros elétricos, tais como: corrente, potencial e carga, tem ampla faixa de aplicação em áreas de conhecimento tão distintas como na medicina, bioquímica, biologia molecular, química ambiental e físico-química.^{56, 57}

As técnicas eletroanalíticas são capazes de fornecer limites de detecção excepcionalmente baixos e uma abundância de informações que caracterizam e descrevem eletroquimicamente determinados sistemas. Uma de suas mais importantes características relaciona-se com o fato destas técnicas possibilitarem o estabelecimento

de relações diretas entre a concentração do analito e alguma propriedade elétrica como: corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga.^{56,57}

As duas técnicas escolhidas para o desenvolvimento desse trabalho foram voltametria cíclica (VC) e a VOQ.

1.4.1 Voltametria cíclica

Os métodos voltamétricos desenvolveram-se a partir da polarografia, técnica desenvolvida em 1922 pelo químico Jaroslav Heyrovsky. A voltametria compreende um grupo de métodos eletroanalíticos nos quais as informações sobre o analito são obtidas através de medidas de corrente em função do potencial aplicado. As informações qualitativas e quantitativas sobre as espécies químicas, que são obtidas a partir destas técnicas, são representadas em uma curva de corrente-potencial chamada de voltamograma.⁵⁶

Frequentemente, a voltametria cíclica é o primeiro experimento a ser realizado quando se deseja estudar o comportamento eletroquímico de um composto ou a superfície do eletrodo. Em voltametria um *signal de excitação* de potencial é aplicado sobre uma célula eletroquímica contendo um microeletrodo. Este sinal extrai uma resposta característica de corrente na qual se baseia o método. Na voltametria cíclica o sinal de excitação é na forma de onda triangular (figura 5) e o potencial varia continuamente com o tempo, partindo de um valor E_i , até um valor limite pré-determinado E_v , após E_v a direção da varredura é invertida e um caminho inverso é percorrido até chegar a E_f , que pode ser o valor do potencial inicial E_i , ou outro valor de potencial pré-determinado. O potencial pode ser repetido ciclicamente entre os valores de potenciais E_i e E_f , onde é possível obter informações sobre o mecanismo da reação em estudo.^{56,58}

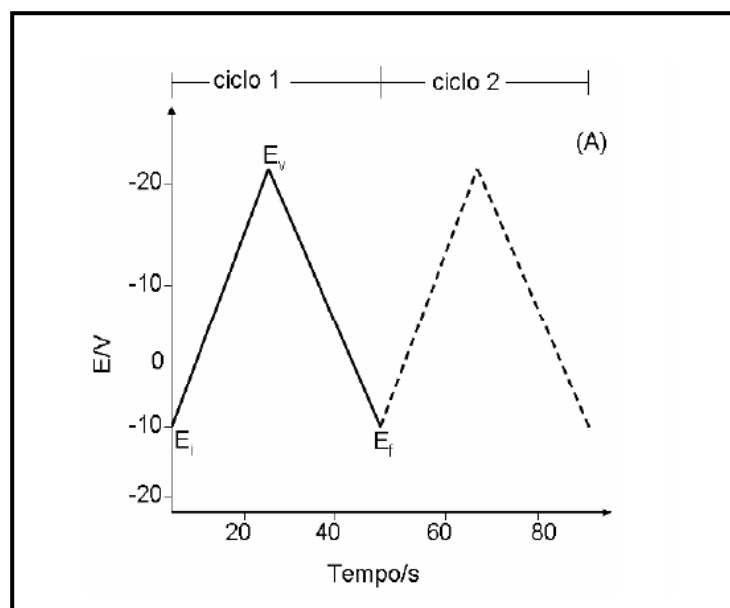


Figura 5. Variação do potencial com o tempo em voltametria cíclica.

1.4.2 Voltametria de onda quadrada

A VOQ foi desenvolvida em 1953 por Geoffery Barker, quando estudava uma maneira de compensar a corrente capacitiva obtida nas análises polarográficas. Barker aplicou pulsos de potencial em um eletrodo gotejante de mercúrio, e chegou a polarografia de onda quadrada.^{57,59} Contudo, a técnica desenvolvida por Barker, possuía uma sensibilidade limitada pela reversibilidade do sistema e, principalmente, pelos ruídos originários de várias fontes que o capilar de mercúrio, juntamente com a coluna captavam, e, assim, influenciavam intensamente nas respostas de corrente. Para resolver este problema, ele optou por modificar a frequência de aplicação da onda quadrada, assim como utilizar uma variação mais rápida na rampa de potencial, de maneira a obter uma resposta de corrente-potencial otimizada, diminuindo o limite de detecção da metodologia. Com base nos primeiros estudos realizados por Barker, em 1969, Ramaley e Krause^{60,61} utilizaram eletrodos estacionários, eliminando assim a influência dos ruídos intensificados pelo uso do capilar de mercúrio. Além disso, eles substituíram a rampa linear de potencial por uma variação na forma de escada. Assim, surgindo a VOQ que utilizava uma variação de potencial na forma de onda, aliada a uma rampa de potencial na forma de escada, gerando um pico simétrico que poderia ser utilizado com

sucesso para determinações analíticas.⁵⁷ Contudo, com esta forma de aplicação de potencial, a medida de corrente era realizada próximo ao centro do pulso, e as varreduras de potenciais eram limitadas para pequenos valores de amplitude, e conseqüentemente, baixas velocidades de varredura, o que provocava uma perda de sensibilidades analítica.

Em 1977 Christie, Turner e Osteryoung^{62,63} desenvolveram um estudo, no qual a medida de corrente era feita ao final do pulso de potencial, o que possibilitava que as varreduras de corrente em função dos pulsos de potenciais aplicados fossem feitas em velocidades maiores que 100 mV s^{-1} , chegando ao modelo atual da VOQ.

A figura 6 apresenta um detalhamento da forma de aplicação de potencial na VOQ, onde a forma do pico de corrente resultante é proveniente da sobreposição de pulsos de potencial de altura a (amplitude do pulso de potencial), a uma escada de potenciais de largura ΔE_s (incremento de varredura de potencial) e duração τ (período). Na curva de potencial-tempo, a largura do pulso ($\tau/2$) é chamada t e a frequência de aplicação dos pulsos é chamada f e é dada por $(1/\tau)$.⁵⁷

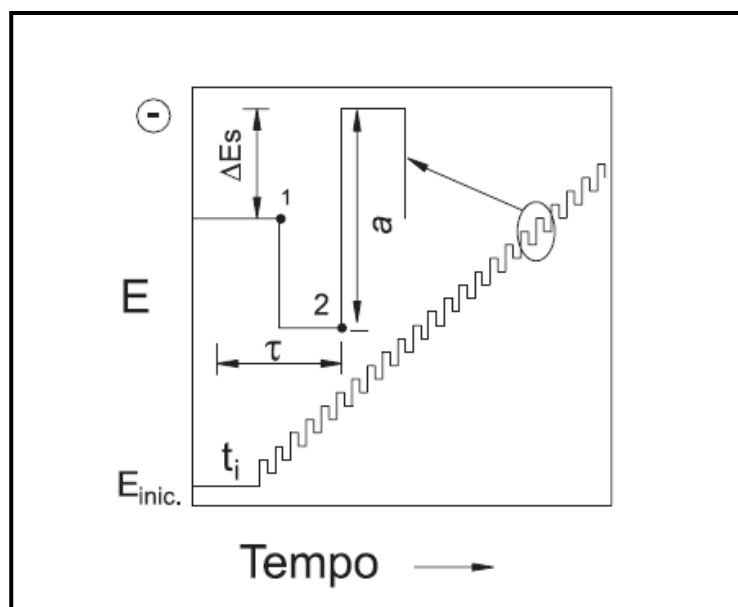


Figura 6. Forma de aplicação do potencial na VOQ.

As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante ($\Delta I = I_d - I_r$) de forma diferencial, e apresenta excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas.⁵⁷ Na figura 7, estão apresentados os voltamogramas teóricos associados a: (1) um sistema

reversível e (2) um sistema irreversível, com a separação das correntes direta, reversa e resultante.

A VOQ é uma das técnicas de pulso mais rápidas e sensíveis entre todas as outras técnicas de pulso. Os limites de detecção obtidos com sua utilização podem ser comparados aos obtidos pelas técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, a análise dos parâmetros característicos desta técnica também possibilitam a avaliação cinética e mecanística do processo eletródico em estudo.⁵⁷

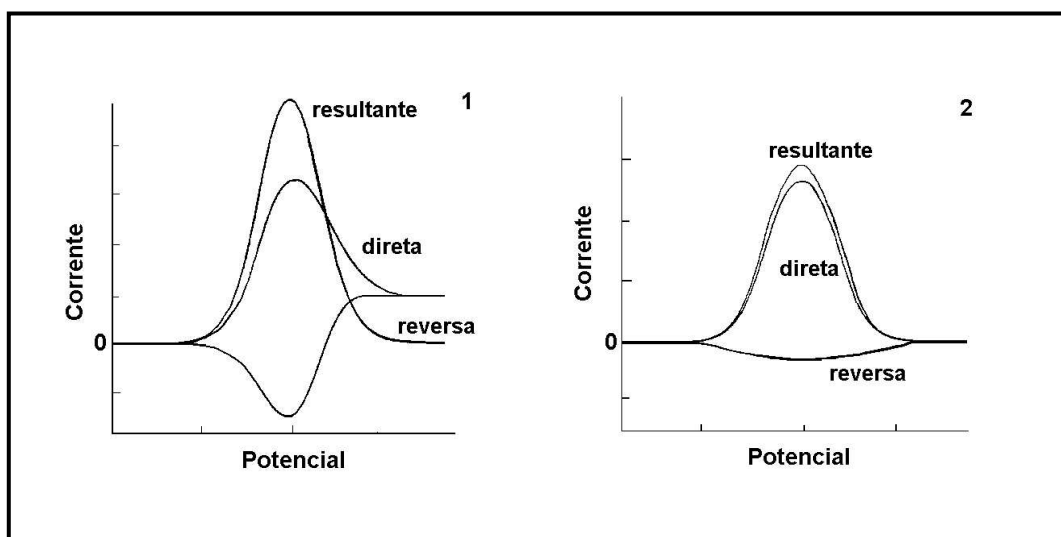


Figura 7. Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde (1) representa um processo redox de um sistema reversível e (2) de um sistema irreversível.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo estudar o desempenho do eletrodo BDD em comparação com outros eletrodos, como CV, platina e ouro e desenvolver uma metodologia eletroanalítica para a determinação de sulfonamidas em formulações farmacêuticas com o eletrodo BDD, através dos métodos voltamétricos voltametria cíclica e VOQ.

2.2 Objetivos específicos

- 1 – Investigar a resposta eletroquímica das sulfonamidas, com o auxílio da voltametria cíclica, sobre eletrodos de CV, platina e ouro e comparar com a resposta obtida com eletrodo BDD.
- 2 – Estudar a influência do eletrólito suporte sobre a resposta analítica das sulfonamidas empregando o eletrodo BDD utilizando a voltametria cíclica.
- 3 – Estudar o comportamento eletroquímico das sulfonamidas sobre eletrodo BDD por voltametria cíclica e VOQ.
- 4 – Otimizar os parâmetros experimentais para a determinação das sulfonamidas, tais como frequência, influência da altura de pulso e variação do incremento de varredura de potencial.
- 5 - Desenvolver nova metodologia analítica para a determinação de sulfonamidas em formulações farmacêuticas empregando eletrodo BDD e utilizando a VOQ.
- 6 – Comparar os resultados obtidos durante o desenvolvimento da metodologia com os resultados obtidos através do método oficial.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Foram utilizados reagentes de grau analítico adquiridos da Sigma (sulfadiazina, sulfametoxazol), Reagen (NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4), FMaia (álcool etílico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico), Carlo Erba (ácido nítrico), Dinâmica (ácido acético glacial), Ecibra (ácido bórico). Foram utilizados sem purificação prévia. Água destilada e desionizada foram utilizadas para a preparação das soluções.

As soluções tampões usadas como eletrólito suporte foram preparadas da seguinte forma:

Tampão Britton-Robinson: foram misturados, ácido acético glacial $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, ácido bórico $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido fosfórico $0,04 \text{ mol L}^{-1}$.

Tampão Fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$: mistura de NaH_2PO_4 e Na_2HPO_4 ambos $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Solução tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ e fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, além de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram testadas como eletrólito suporte. Quando necessário, o pH da fase aquosa foi ajustado com H_3PO_4 ou NaOH . O eletrólito suporte foi misturado a etanol numa proporção 50/50 v/v.

As soluções estoque do padrão de sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas previamente ao uso, em um balão volumétrico de 50 mL, através da pesagem de uma quantidade apropriada da substância e dissolvida em etanol. A solução foi avolumada com o eletrólito suporte adequado para o experimento programado.

3.2 Célula e eletrodos

Os voltamogramas cíclicos e de onda quadrada foram obtidos em uma célula eletroquímica com capacidade de 30 mL contendo três eletrodos: os eletrodos de trabalho utilizados foram: CV (CV-BAS MF 2012), platina (Pt-BAS MF 2013), ouro (Au-PAR G0227), eletrodo comercial BDD (*Windsor Scientific Limited* da Inglaterra

com teor de boro de 1000 ppm, diâmetro de 3mm) e não comercial BDD (fabricado pelo *Centre Suisse de Electronique et de Microtechnique SA*, em Neuchatêl, Suíça, com teor de boro de 8000 ppm, área de 0,36 cm²; detalhes sobre a preparação do filme de diamante podem ser obtidas na literatura pertinente⁶⁴); o contra eletrodo foi o eletrodo de platina e como referência foi utilizado um eletrodo de calomelano saturado (ECS).

Inicialmente, foi feito o estudo dos possíveis processos de oxidação e redução das sulfonamidas sobre o eletrodo não comercial BDD em etanol/H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ 50/50 v/v, através da voltametria cíclica, com a variação de potencial de -0,2 a +1,7 V/ECS e outra variação de potencial de +0,1 a -2,0 V/ECS. Todavia, não foi observado nenhum pico de redução na variação de potencial de +0,1 a -2,0 V/ECS, somente um pico de oxidação quando foi aplicado a variação de potencial de -0,2 a +1,7 V/ECS, sendo este pico usado como resposta analítica para a determinação das sulfas.

A corrente de oxidação das sulfonamidas obtidas sobre os micro-eletrodos: CV, platina e ouro foram comparadas às obtidas com eletrodo não comercial BDD. Os eletrodos de trabalho (CV, platina e ouro) foram polidos com pasta de alumina (0,05 µm), lavados e colocados em ultra-som para retirar a alumina remanescente antes de cada medida.

Nas repostas obtidas com a VOQ, a corrente medida (Δi) é uma resultante entre as correntes de varredura no sentido direto e reverso de aplicação dos pulsos de potencial.

3.3 Equipamentos

Para a determinação das sulfonamidas foram feitos estudos de voltametria cíclica e VOQ. Para tanto, foi utilizado um potenciostato/galvanostato EG&G PARTM, modelo 263A, em conjunto com o software M270 acoplado a um computador.

As medidas de pH foram realizadas em pHmetro ORION modelo 720A.

Um ultra-som METASOM-14 foi utilizado para a dissolução dos reagentes e das amostras dos produtos farmacêuticos.

As medidas de HPLC foram feitas utilizando um Cromatógrafo Shimadzu modelo 10AD com detector UV-VIS modelo SPD-M10A e coluna Supelco LC-18.

3.4 Procedimento para o pré-tratamento catódico do eletrodo BDD

Diariamente, antes das medidas eletroquímicas o eletrodo de trabalho BDD foi condicionado por 30 min em H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} a -2,0 V/ECS e antes de registrar cada voltamograma, por 60 s a -2,0 V/ECS, em seguida lavado com água desionizada para remover o H_2SO_4 , uma vez que nem todos os experimentos foram feitos utilizando H_2SO_4 como eletrólito suporte.

3.5 Procedimento para a determinação das sulfonamidas em formulações farmacêuticas

Determinaram-se sulfadiazina e sulfametoxazol nos seguintes produtos farmacêuticos: Suladrin[®], Laboratório Catarinense S. A. (sulfadiazina 500 mg) e Genéricos Teuto[®], Laboratório Teuto Brasileiro S. A. (sulfametoxazol 400 mg + trimetoprima 80 mg). Esses produtos foram adquiridos em farmácias da região de Florianópolis – SC.

Foram pesados separadamente 10 comprimidos de cada formulação farmacêutica e macerados até um pó fino (média de 0,6050 g para a sulfadiazina e 0,5711 g para a sulfametoxazol + trimetoprima para cada comprimido). Pesou-se uma massa de 12,5 mg de sulfadiazina e 126,6 mg de sulfametoxazol + trimetoprima. Transferiu-se cada uma para um balão volumétrico e dissolveu-se em etanol. O restante do volume foi completado com eletrólito suporte no qual o experimento foi realizado numa proporção 50/50 v/v. O balão volumétrico contendo a amostra foi agitado e deixado em ultra-som por 5 min.

Uma alíquota da solução da amostra foi adicionada na célula eletroquímica contendo 10 mL do eletrólito suporte e 10 mL de etanol, em seguida iniciou-se a varredura no sentido de oxidação das sulfas, desta forma registrando os voltamogramas de onda quadrada para a amostra. Em seguida sucessivas adições do padrão das sulfas foram realizadas e os voltamogramas registrados para cada adição.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo está dividido em duas partes: a primeira descreve os resultados e discussão referentes à utilização do eletrodo comercial BDD da *Windsor Scientific Limited* da Inglaterra; e a segunda referente à utilização do eletrodo não comercial BDD do *Centre Suisse de Electronique et de Microtechnique SA*, em Neuchatêl, Suíça.

4.1 Eletrodo comercial de diamante dopado com boro

4.1.1 Efeito do pré-tratamento superficial do eletrodo BDD

Segundo a literatura^{29,30} uma das características do eletrodo BDD é não precisar de pré-tratamento superficial antes do uso. Contudo, como pode ser observado na figura 8, os voltamogramas cíclicos sucessivos realizados após o primeiro voltamograma não reproduziram a corrente de pico, conforme mostrado nos voltamogramas cíclicos sucessivos ao V1 os quais são V3, V4 e V5 respectivamente. Panizza e colaboradores⁶⁵ também observaram este comportamento em estudos com o eletrodo BDD após cinco voltamogramas cíclicos em solução de 2-naftol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, mas sua atividade foi restaurada após uma polarização anódica na mesma solução do analito.

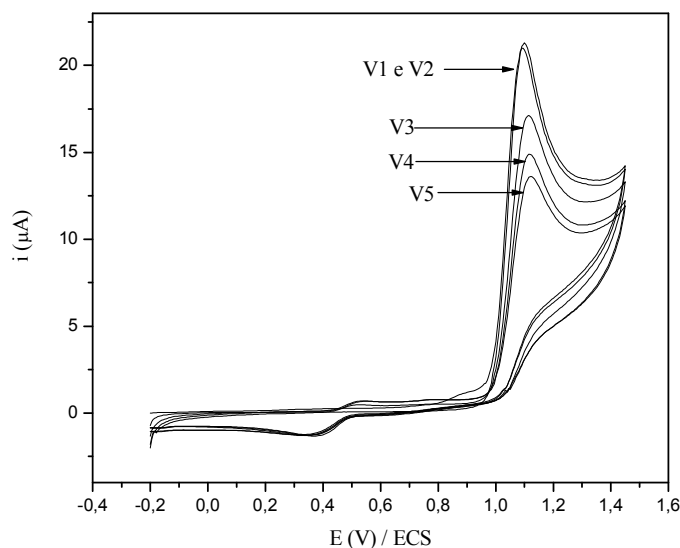


Figura 8. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v para $v = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo comercial BDD. Com o pré-tratamento em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Baseando-se em estudos já descritos na literatura,⁶⁶ um pré-tratamento foi aplicado ao eletrodo comercial BDD com o objetivo de alcançar resultados reprodutíveis. Este procedimento consiste em polarizar o eletrodo em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 30 min a $+3,0 \text{ V/ECS}$, esta polarização anódica deixa a superfície do eletrodo com características hidrofílicas. Após a polarização anódica, o eletrodo BDD é submetido à polarização catódica em $-3,0 \text{ V/ECS}$ nas mesmas condições experimentais anteriores a fim de melhorar a resposta eletroquímica. Finalmente, o pré-tratamento catódico em $-3,0 \text{ V/ECS}$ em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ é aplicado por 30 s antes da realização de cada voltamograma para a obtenção de resultados reprodutíveis.

Foi feita uma pequena modificação no procedimento para o pré-tratamento catódico, aplicando $-2,0 \text{ V/ECS}$ em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 60 s. O pré-tratamento do eletrodo comercial BDD foi feito em uma célula separada da que continha as sulfonamidas em estudo. Através deste procedimento foi possível obter excelente resposta do eletrodo e resultados reprodutíveis para a determinação das sulfonamidas, como pode ser observado na figura 8, onde V1 é o voltamograma cíclico obtido após o tratamento catódico em $-2,0 \text{ V/ECS}$ em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 30 min, V3, V4 e V5

são os voltamogramas cíclicos sucessivos ao V1 sem pré-tratamento catódico, onde a corrente de pico não é reprodutível e V2 é o voltamograma cíclico obtido após o tratamento catódico em $-2,0$ V/ECS em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 60 s, onde é possível observar que o voltamograma reproduz a corrente de pico de V1.

Contudo, com a realização dos estudos de VOQ para a otimização dos parâmetros experimentais para posterior determinação da sulfadiazina em produtos farmacêuticos, o eletrodo comercial BDD não permitiu obter dados reprodutíveis, mesmo quando submetido ao pré-tratamento catódico em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Na figura 9 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada para sulfadiazina, todos na mesma solução e nas mesmas condições experimentais com o pré- tratamento catódico em $-2,0$ V/ECS em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 60 s entre cada voltamograma de onda quadrada.

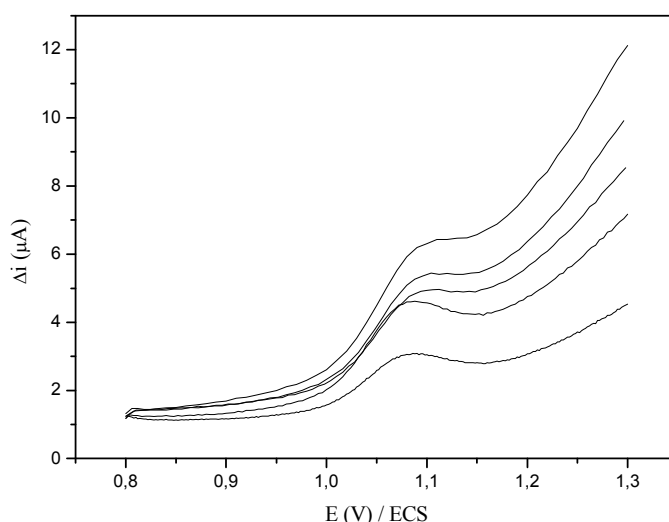


Figura 9. Voltamogramas de onda quadrada para a sulfadiazina $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo comercial BDD; $f = 100 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$. Com o pré-tratamento em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Para solucionar o problema de falta de reprodutibilidade dos dados obtidos com o eletrodo comercial BDD foi contactado o fornecedor do eletrodo e este disponibilizou uma nota técnica⁶⁷, onde são descritos alguns procedimentos para o pré-tratamento superficial do eletrodo. Um dos procedimentos sugeridos é o pré-tratamento em HNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, ciclando o potencial que pode variar entre $-3,0 \text{ V}$ e $+5,0 \text{ V/ECS}$ e solução com agitação vigorosa até que um sinal estável seja detectado (10 a 20 ciclos com $v =$

100 mV s⁻¹). Normalmente, quando deseja-se fazer o pré-tratamento catódico aplica-se o potencial entre 0 V e -3,0 V/ECS e quando deseja-se fazer o pré-tratamento anódico aplica-se o potencial entre 0 V e + 5,0 V/ECS.

Para esclarecer o procedimento, a nota técnica citada traz um exemplo do pré-tratamento do eletrodo comercial BDD para o sistema redox Fe(CN)₆⁻⁴ em HNO₃ 1,0 mol L⁻¹ ciclando o potencial entre 0 V e -3,0 V/ECS e solução com agitação vigorosa (10 ciclos com $\nu = 100$ mV s⁻¹), onde este mostrou-se eficiente para a renovação da superfície do eletrodo.

Nas mesmas condições realizadas para o sistema redox Fe(CN)₆⁻⁴ foi feito o pré-tratamento do eletrodo comercial BDD para a sulfadiazina com uma pequena modificação aplicando-se 15 ciclos.

Então, foi realizado o pré-tratamento em HNO₃ 1,0 mol L⁻¹ ciclando o potencial entre 0 V e -3,0 V/ECS com 15 ciclos e $\nu = 100$ mV s⁻¹. Os resultados obtidos após o pré-tratamento indicado estão apresentados na figura 10, onde a, b e c são os voltamogramas cíclicos obtidos após o pré-tratamento. Como pode ser observado, mesmo após a aplicação do pré-tratamento indicado pelo fabricante do eletrodo comercial BDD, não foram obtidos dados reprodutíveis.

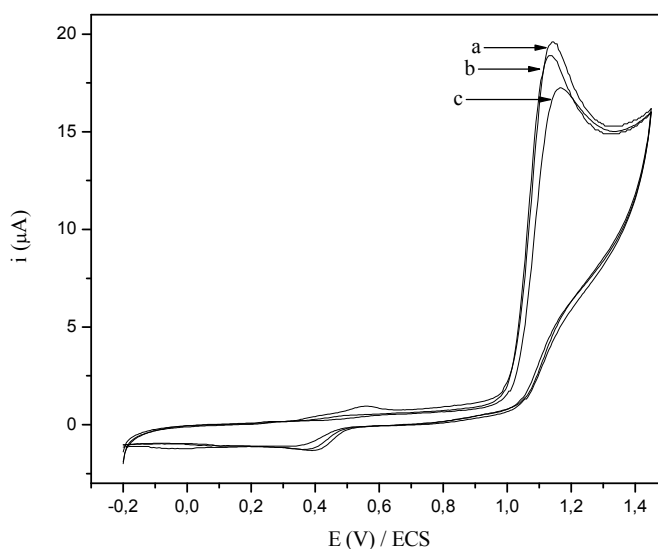


Figura 10. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em etanol/H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ 50/50 v/v para $\nu = 75$ mV s⁻¹ com o eletrodo comercial BDD. Com o pré-tratamento em HNO₃ 1,0 mol L⁻¹.

Outra maneira sugerida pelo fabricante para obter dados reprodutíveis é o polimento do eletrodo comercial BDD com alumina.

Esse procedimento foi adotado, usando-se alumina $0,05\ \mu\text{m}$. Num primeiro momento os resultados foram satisfatórios, como mostrado na figura 11. Todavia, com o uso do eletrodo dados não reprodutíveis começaram a serem obtidos.

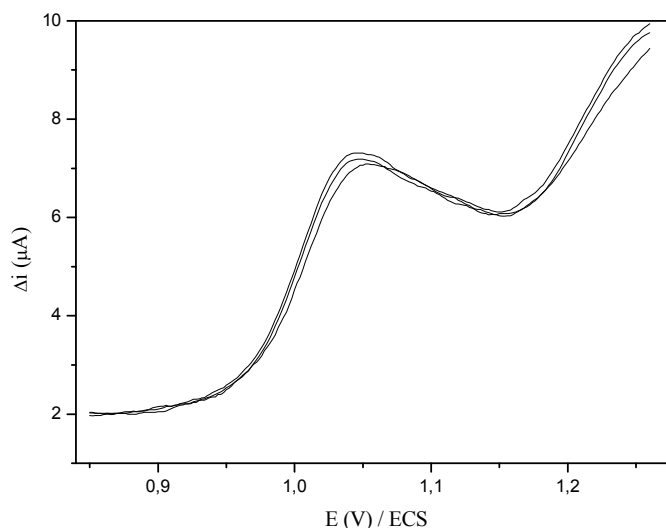


Figura 11. Voltamogramas de onda quadrada para a sulfadiazina $2,0 \times 10^{-5}\ \text{mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,1\ \text{mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo comercial BDD; $f = 100\ \text{Hz}$, $\Delta H = 30\ \text{mV}$ e $\Delta E_s = 4\ \text{mV}$. Com o pré-tratamento em alumina $0,05\ \mu\text{m}$.

Também com o objetivo de avaliar a eficiência do pré-tratamento superficial do eletrodo comercial BDD com alumina $0,05\ \mu\text{m}$, foi realizado o estudo da repetibilidade obtendo-se sete medidas sucessivas através da VOQ. Com o eletrodo imerso em solução de sulfadiazina $2,0 \times 10^{-5}\ \text{mol L}^{-1}$, intercalado com o polimento em alumina, foi encontrado um desvio padrão relativo de 0,540%. Este resultado indica a viabilidade da utilização do eletrodo comercial BDD com o pré-tratamento em alumina, para a determinação de sulfadiazina.

Com os resultados satisfatórios obtidos com o polimento em alumina $0,05\ \mu\text{m}$ do eletrodo comercial BDD, otimizou-se os parâmetros de VOQ e construiu-se uma curva analítica para a sulfadiazina. Como pode ser constatado na análise da figura 12, a corrente de oxidação da sulfadiazina não mostrou linearidade com a concentração da solução. O coeficiente de correlação de 0,2568 indica a não linearidade da curva, demonstrando que o procedimento não pode ser usado para a determinação eletroanalítica desta sulfá.

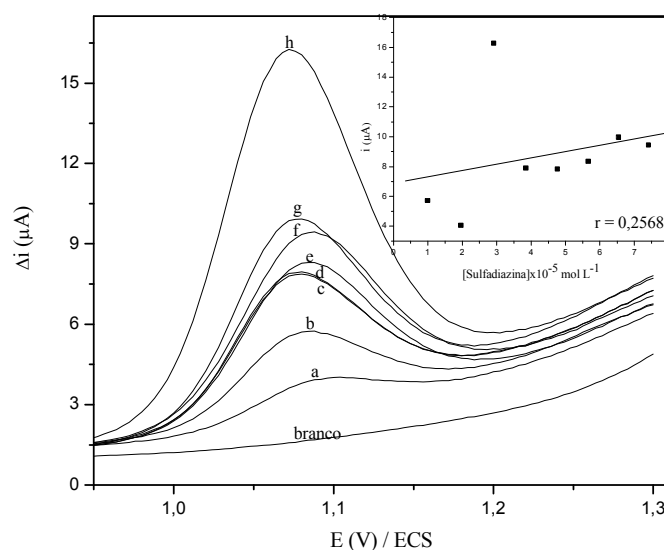


Figura 12. Voltamogramas de onda quadrada em diferentes concentrações para a sulfadiazina (a) $1,96 \times 10^{-5}$, (b) $9,90 \times 10^{-6}$, (c) $4,76 \times 10^{-5}$, (d) $3,85 \times 10^{-5}$, (e) $5,66 \times 10^{-5}$, (f) $7,41 \times 10^{-5}$, (g) $6,54 \times 10^{-5}$ e (h) $2,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em etanol/ H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} 50/50 v/v com o eletrodo comercial BDD. Inserção: Dependência da corrente em função da concentração de sulfadiazina. Com o pré-tratamento em alumina 0,05 μm .

Na figura 12 as concentrações de sulfadiazina não aparecem em ordem crescente de concentração, devido a concentração de sulfadiazina não apresentar uma dependência linear com a corrente de pico.

Devido a falta de reprodutibilidade dos voltamogramas cíclicos e de onda quadrada optou-se por não usar mais o eletrodo comercial BDD para a determinação das sulfonamidas.

As propriedades dos eletrodos BDD podem ser afetadas pela quantidade e pelo tipo do dopante, fatores morfológicos e defeitos sobre o filme, impurezas presentes (carbono sp^2), orientação cristalográfica e terminação da superfície (hidrogênio ou oxigênio).⁶⁶ Portanto, fica difícil atribuir a razão do não funcionamento do eletrodo comercial BDD. Uma explicação mais aceitável sugerida é o baixo teor de boro no eletrodo comercial BDD. Estudos indicam que o teor de boro influencia diretamente na resposta eletroquímica dos eletrodos BDD.⁶⁶

4.2 Eletrodo não comercial de diamante dopado com boro

4.2.1 Estudos com as sulfonamidas

4.2.1.1 Efeito do pré-tratamento catódico do eletrodo BDD

O pré-tratamento catódico, descrito anteriormente para o eletrodo comercial BDD, foi aplicado no eletrodo não comercial BDD, com o objetivo de obter resultados reprodutíveis. A figura 13 mostra o voltamograma cíclico V1 obtido do primeiro ciclo da oxidação eletroquímica da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v. Os voltamogramas cíclicos V3 e V4 são os voltamogramas sucessivos após o V1, isto é, sem o pré-tratamento. Como pode ser observado, nestes voltamogramas ocorreu um decréscimo da corrente de pico, mostrando a não reprodutibilidade dos voltamogramas.

A renovação da superfície do eletrodo foi feita através do pré-tratamento em -2,0 V/ECS em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 60 s em célula separada da que continha a sulfadiazina. O voltamograma cíclico V2 foi obtido após ao pré-tratamento catódico, que se mostrou eficiente para a renovação da superfície do eletrodo. O procedimento de pré-tratamento catódico foi adotado durante todo o estudo subsequente.

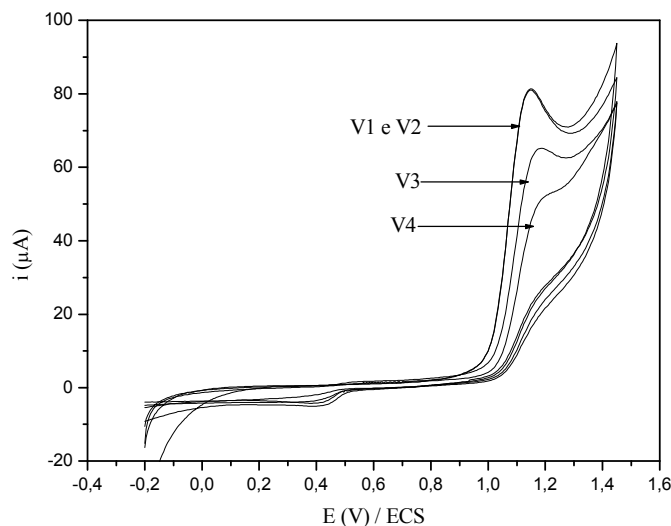


Figura 13. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v para $v = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.

4.2.1.2 Resposta eletroquímica das sulfonamidas sobre diferentes eletrodos

A oxidação da sulfadiazina e sulfametoxazol foi estudada em eletrodos de CV, platina, ouro e BDD não comercial. A oxidação da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v sobre o eletrodo de CV e platina apresentou uma pequena corrente de pico, como mostrado na figura 14. Contudo, uma boa sensibilidade foi observada com os eletrodos de ouro e BDD não comercial, mas somente o eletrodo não comercial BDD apresentou uma corrente e uma definição de pico maior que os demais eletrodos, mais sensível à determinação eletroanalítica. A resposta eletroquímica do eletrodo não comercial BDD mostrou-se superior aos demais eletrodos, ficando clara a seleção do eletrodo não comercial BDD para o desenvolvimento deste trabalho. Nos eletrodos de CV, platina e BDD não comercial foram observadas pequenas flutuações da corrente de pico na varredura negativa de potencial em aproximadamente $+0,4 \text{ V/ECS}$. Já para o eletrodo de ouro, uma acentuada corrente de pico foi observada na varredura negativa em torno de $+0,7 \text{ V/ECS}$, isto ocorre devido a dessorção de oxigênio

e não à redução da sulfadiazina. Resultados similares foram também obtidos para a sulfametoxazol (dados não mostrados).

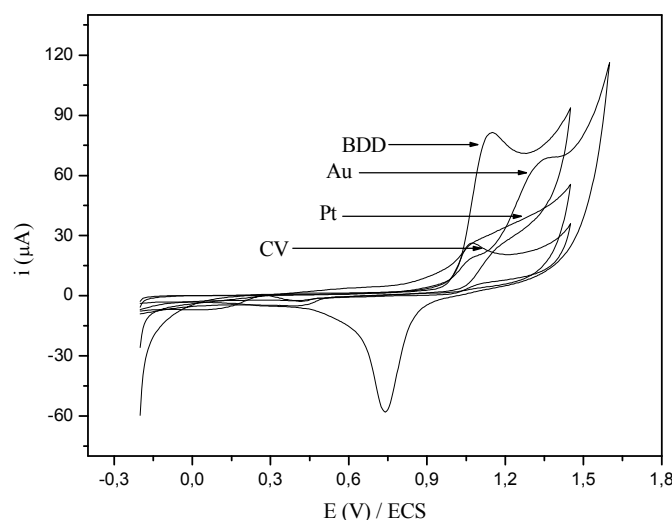


Figura 14. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v para $v = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com os eletrodos não comercial BDD, platina, ouro e carbono vítreo.

4.2.1.3 Seleção do eletrólito suporte

Um parâmetro importante sobre a resposta eletroanalítica é o eletrólito suporte, pois este influencia diretamente na intensidade da corrente de pico. A escolha do eletrólito suporte pode modificar a termodinâmica e a cinética do processo eletródico, bem como o transporte de massa na célula.⁶⁸ Desta forma, testou-se diferentes eletrólitos suporte: tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A figura 15 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos suporte. De acordo com os voltamogramas, observa-se que a definição do pico de oxidação da sulfadiazina em tampão Britton-Robinson ficou comprometida, devido à baixa intensidade da corrente de pico. A intensidade da corrente de pico melhorou quando foi utilizado tampão fosfato e H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, mas uma melhor definição da corrente de pico foi obtida em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

L^{-1} , sendo este escolhido como eletrólito suporte para dar continuidade aos estudos. Resultados semelhantes foram obtidos para a sulfametoxazol (dados não mostrados).

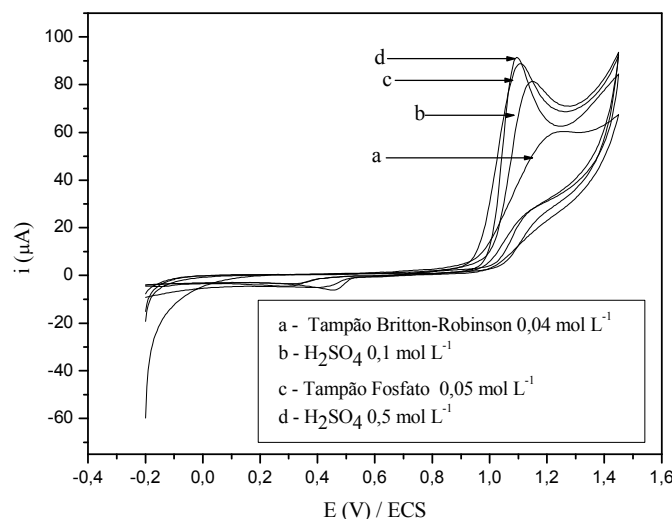


Figura 15. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos suporte em $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.

4.2.2 Estudos com a sulfadiazina

4.2.2.1 Comportamento voltamétrico da sulfadiazina

Segundo a estrutura química (figura 1), as sulfonamidas podem ser oxidadas no grupo amino primário ($-\text{NH}_2$) e reduzidas no grupo sulfamil ($-\text{SO}_2\text{NHR}$). Alguns autores^{15,20,22} estudaram a oxidação eletroquímica das sulfonamidas e propuseram um mecanismo reacional dependente do pH, sendo o processo irreversível e envolvendo a transferência de dois elétrons, enquanto que a redução também apresenta um mecanismo reacional dependente do pH e com processo irreversível, mas com números de elétrons envolvidos diferentes para cada sulfa. Por exemplo,²⁰ a salazosulfapiridina sobre eletrodo de mercúrio é facilmente reduzida a derivados de hidrazina, envolvendo um processo com transferência de dois elétrons. Já a sulfametoxazol, também sobre eletrodo de mercúrio, é dificilmente reduzida através de mecanismo radicalar envolvendo a transferência de um elétron.

Na figura 16 observa-se o voltamograma cíclico da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sobre o eletrodo não comercial BDD em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, com uma variação de potencial positiva de -0,2 a +1,4 V/ECS, seguida de uma variação de potencial negativa de +1,4 a -0,2 V/ECS. No sentido positivo de variação de potencial é possível observar somente um pico de oxidação para a sulfadiazina, em torno de +1,1 V/ECS e no sentido negativo de variação de potencial é possível observar uma pequena flutuação em torno de +0,4 V/ECS. Entretanto, estes dois picos não podem ser considerados como um par reversível, primeiramente pela separação entre os picos, de aproximadamente 560 mV, muito maior do que o previsto teoricamente ($60/n \text{ mV}$)^{58,69} e pela razão entre a intensidade de corrente catódica e anódica. A corrente de pico anódica (i_{pa}) é 30 vezes maior do que a corrente de pico catódica (i_{pc}), muito diferente do esperado teoricamente para reações reversíveis ($i_{pa}/i_{pc} = 1,0$)^{58,69}, sugerindo que a oxidação da sulfadiazina é um processo irreversível. Segundo Momberg e colaboradores,²² o que pode estar ocorrendo na varredura reversa é a redução de um ou mais produtos formados na eletro-oxidação da sulfadiazina. No entanto, os autores não especificaram quais são os produtos formados na eletro-oxidação da sulfadiazina.

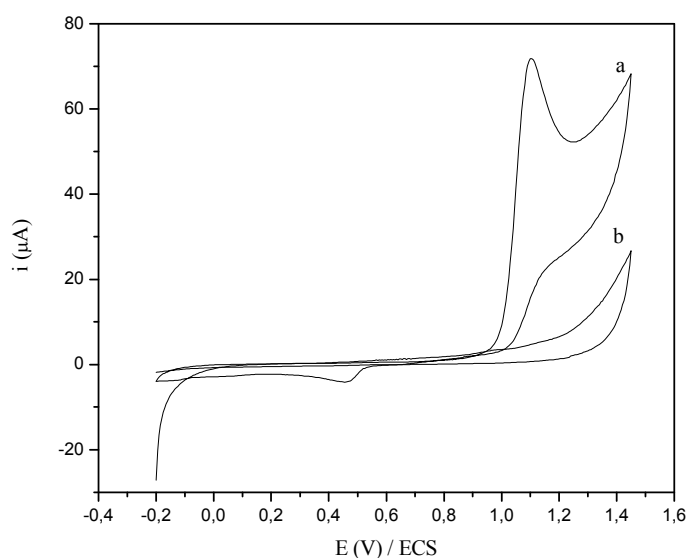
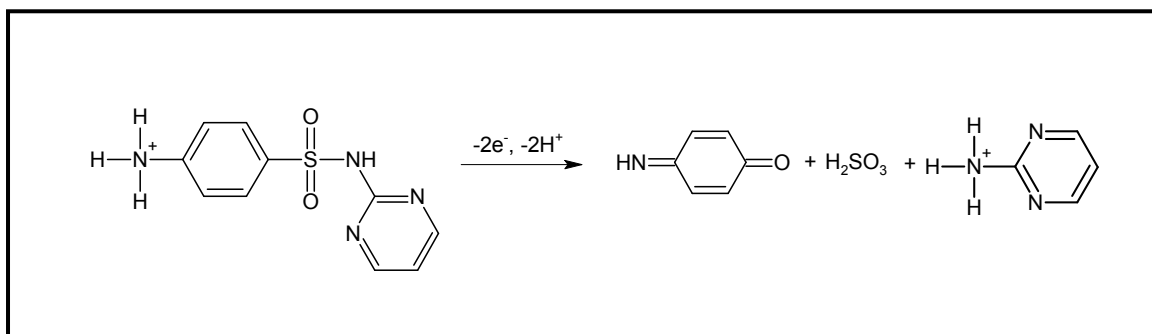


Figura 16. Voltamogramas cíclicos: (a) sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (b) branco, $v = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.

Estudos indicam que no processo de oxidação da sulfadiazina estão envolvidos dois elétrons e, baseando-se em esquemas de oxidação propostos na literatura²² para outros compostos semelhantes a sulfadiazina, sugere-se que a sulfadiazina em meio ácido pode se oxidar formando a iminobenzoquinona liberando dois elétrons e dois prótons como mostra a figura 17.

Figura 17. Esquema de oxidação para a sulfadiazina.



4.2.2.2 Influência da velocidade de variação de potencial (v)

A natureza do processo eletródico pode ser caracterizada sobre superfícies planas ou esféricas utilizando a técnica de voltametria cíclica, analisando-se a influência da velocidade de variação de potencial sobre os potenciais e as correntes observadas nos voltamogramas cíclicos.^{58,69} Assim sendo, o comportamento eletroquímico da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi estudado analisando-se a velocidade de variação de potencial no intervalo de $10 - 100 \text{ mV s}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v. A figura 18 mostra a influência da velocidade de variação de potencial (v) sobre o perfil voltamétrico da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v.

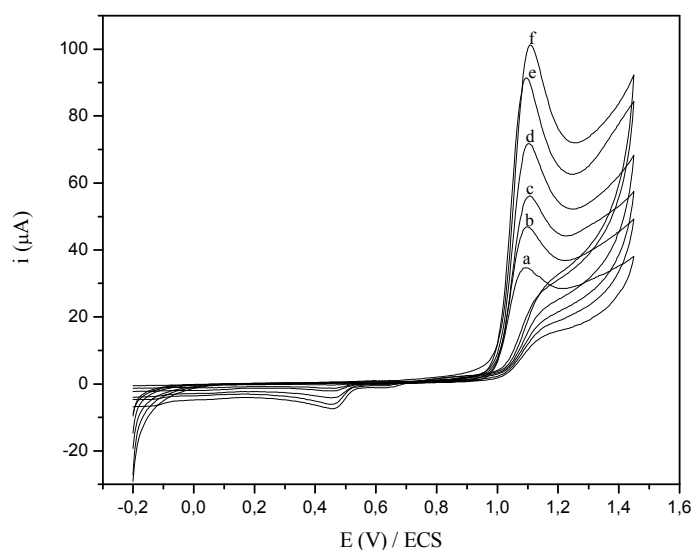


Figura 18. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v para diferentes velocidades de variação de potencial (ν): (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 50, (e) 75 e (f) 100 mV s^{-1} com o eletrodo não comercial BDD.

Nos voltamogramas mostrados acima é possível observar que o aumento de ν provocou um aumento nos valores das respectivas densidades de corrente de pico e deslocamento no sentido positivo no potencial de oxidação. Alguns critérios envolvendo a velocidade de variação de potencial foram aplicados para estudar a reversibilidade e a etapa determinante da velocidade da reação de oxidação da sulfadiazina. A figura 18 mostra o gráfico do potencial de pico anódico (E_{pa}) em função da velocidade de varredura de potencial (ν) para a oxidação da sulfadiazina.

Observando a figura 19, constata-se que os valores de E_{pa} deslocam-se para valores mais positivos conforme ν aumenta. Para processos eletródicos reversíveis, o potencial de pico independe de ν .^{58,69} Logo, conclui-se que o processo associado à reação de oxidação da sulfadiazina é irreversível. O mesmo comportamento foi observado por Rao e colaboradores¹⁵ em tampão fosfato pH 7,1 com o eletrodo BDD e por Preechaworapun e colaboradores¹⁶ em solução de fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,0 com o eletrodo BDD.

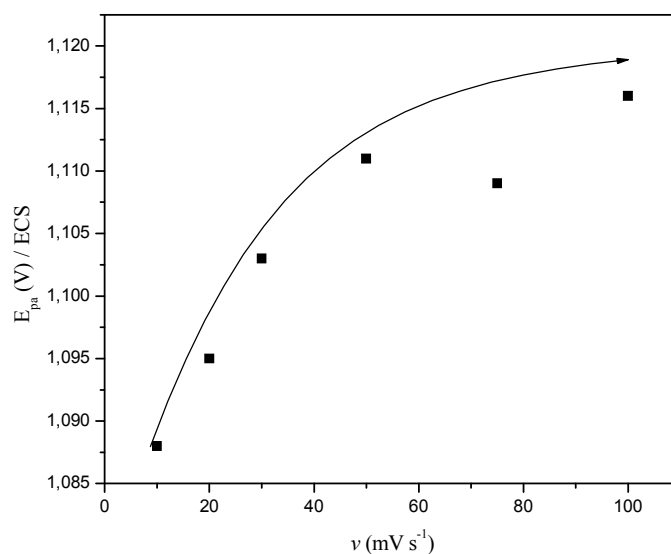


Figura 19. Influência de ν sobre E_{pa} para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

Dois critérios foram usados para estudar a natureza do processo eletródico sobre a superfície do eletrodo não comercial BDD. São as análises das curvas $\log i$ em função do $\log \nu$ e i em função de $\nu^{1/2}$. As figuras 20 e 21 mostram esses gráficos para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

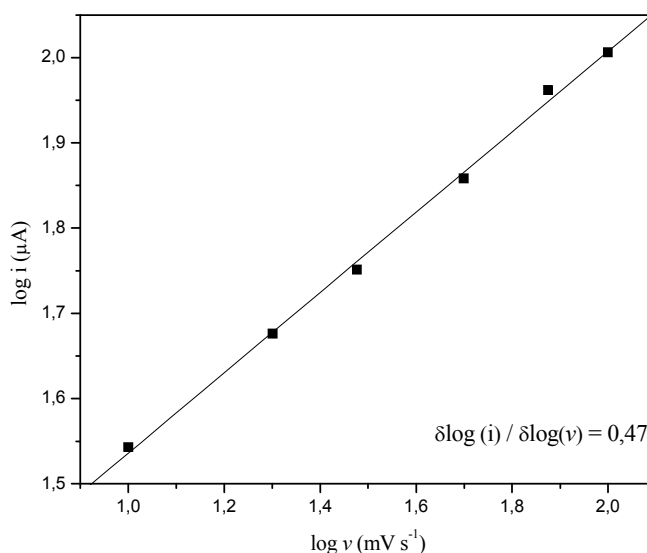


Figura 20. Variação do $\log i$ com o $\log \nu$ para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

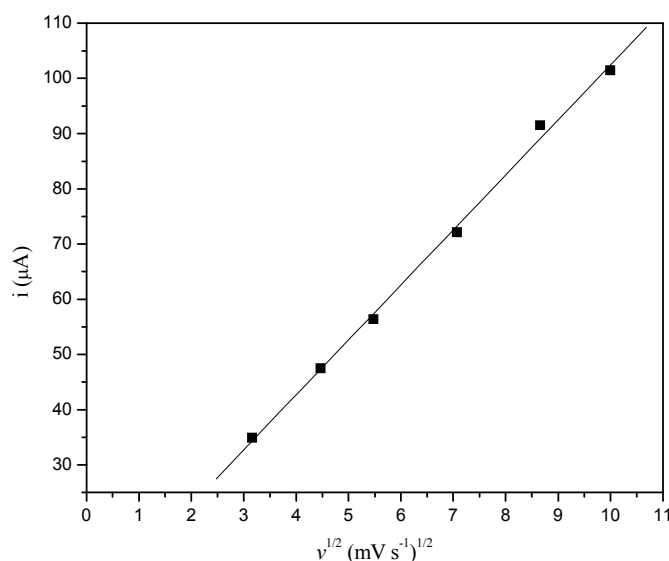


Figura 21. Variação de i com $v^{1/2}$ para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

Na figura 20 verificou-se que o $\log i$ em função do $\log v$ apresentou um comportamento linear, sendo $\delta \log(i)/\delta \log(v) = 0,47$. Um comportamento linear com $\delta \log(i)/\delta \log(v) \cong 0,5$ é esperado para um processo de transporte de massa controlado por difusão e $\delta \log(i)/\delta \log(v) \cong 1,0$ em um processo de transporte de massa controlado por adsorção.^{58,69} A inclinação encontrada para o gráfico (0,47) indica um processo de transporte de massa controlado difusionalmente. Este comportamento foi também observado para a sulfadiazina por Carrazon e colaboradores²³ sobre eletrodo de CV em tampão Britton-Robinson pH 5,0.

Em sistemas reversíveis ou irreversíveis sem complicações cinéticas, i varia linearmente com $v^{1/2}$, passando pela origem dos pontos. No entanto, o gráfico i em função de $v^{1/2}$ pode apresentar desvio de linearidade e um valor diferente de zero para o coeficiente linear se no processo eletródico estiverem envolvidas reações químicas anteriores ou posteriores à transferência eletrônica. Na figura 21 observa-se que o gráfico i em função de $v^{1/2}$ apresentou um comportamento linear, mas não passou pela origem. Isso é uma evidência que as reações eletródicas são controladas difusionalmente, mas há reações químicas acopladas à transferência de carga. No entanto, não foram realizados estudos para caracterizar estas reações. Outra técnica,

como a cronocoulometria, poderia dar informações adicionais sobre esses processos, todavia a exploração dessa técnica não faz parte dos objetivos deste trabalho.

4.2.2.3 Influência do pH da solução

A influência do pH na resposta da corrente de pico e do potencial de pico para o processo de oxidação da sulfadiazina foi estudada em solução fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ variando o pH de 2,3 a 11,0. Na figura 22 são apresentados os voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato com diferentes valores de pH (2,3; 4,1; 6,1; 7,6; 8,8 e 11,0). Para facilitar a visualização dos valores dos potenciais de pico anódico, plotou-se o gráfico dos potenciais de pico anódico (E_{pa}) em função do pH (figura 22).

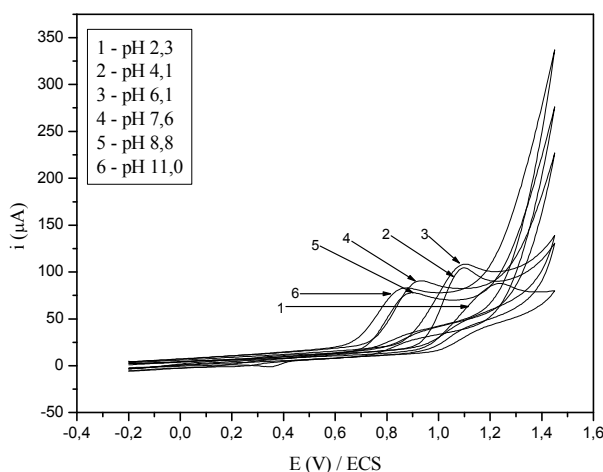


Figura 22. Voltamogramas cíclicos da sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/solução fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v; em pH (2,3; 4,1; 6,1; 7,6; 8,8 e 11,0); $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.

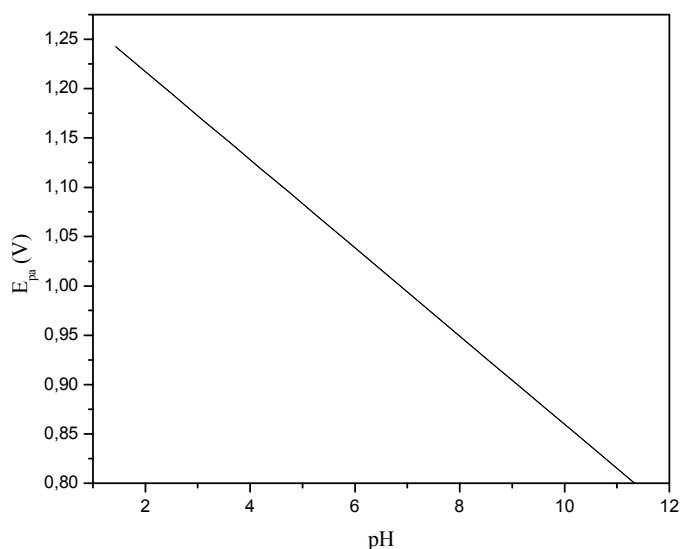


Figura 23. Variação de E_{pa} em função do pH para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em etanol/solução fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v.

Na figura 22 é possível observar que os valores de E_{pa} deslocaram-se para valores menores de potencial à medida que o pH aumentou. Isso pode ser atribuído à existência de uma reação de pré-protonação acoplada ao processo de transferência eletrônica, ou ainda, que a linearidade presente na curva E_{pa} em função do pH (figura 23), em todo o intervalo de pH, evidencia o envolvimento de íons H_3O^+ no processo de oxidação da sulfadiazina.²²

Na figura 24 apresenta-se o comportamento da corrente de pico anódica (i) em função do pH. Como pode ser observado, a corrente aumentou com o aumento do pH até 6,1 decrescendo em pHs superiores (7,6; 8,8 e 11,0). Em pH maiores que 6,1, a definição do pico de oxidação da sulfadiazina e a corrente de pico apresentaram valores muito baixos, devido a desprotonação da molécula de sulfadiazina. A quebra no gráfico de i vs. pH em pH 6,1, está em concordância com o valor do pK_a para a sulfadiazina de 6,5 citado da literatura⁷⁰, e corresponde a desprotonação do grupo sulfamil.

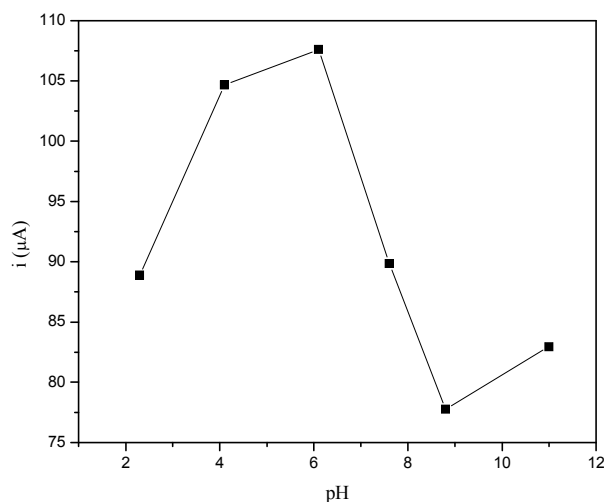


Figura 24. Influência do pH na resposta da corrente de pico para a sulfadiazina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em etanol/solução fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v.

4.2.2.4 Otimização dos parâmetros para voltametria de onda quadrada (VOQ)

No desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica é de extrema importância a otimização dos parâmetros que possam influenciar na resposta do eletrodo. Portanto, foi realizado o estudo dos parâmetros da VOQ, como frequência (f), altura de pulso (ΔH ; $a = \Delta H/2$) e incremento de varredura de potencial (ΔE_s), buscando, desta forma, o maior sinal analítico do eletrodo não comercial BDD.

O efeito da frequência (f) foi estudado no intervalo de 10 a 70 Hz, em solução de sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v, com ΔH de 10 mV e ΔE_s de 2 mV. Os resultados obtidos estão mostrados na figura 25.

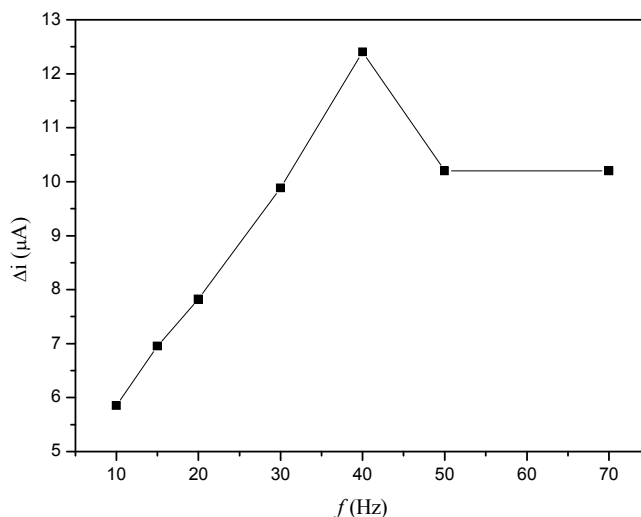


Figura 25. Dependência da corrente de pico com a frequência para a sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

Como pode ser observado na figura 25 há um aumento da corrente até 40 Hz, depois a corrente decai e torna-se constante. A frequência de 40 Hz foi então selecionada para estudos posteriores. Em seguida, avaliou-se a influência da altura de pulso na faixa de 10 a 50 mV, nas mesmas condições experimentais, e observou-se um aumento da corrente até 30 mV. Para valores de altura de pulso acima de 30 mV os voltamogramas apresentaram ruídos, dificultando a leitura da corrente de pico (gráfico não apresentado). Finalmente, avaliou-se o efeito do incremento de varredura na faixa de 1 a 5 mV (figura 26), nas condições selecionadas, onde observou-se uma maior corrente de pico em 2 mV, decrescendo em valores superiores (3, 4 e 5 mV). Os valores selecionados para o desenvolvimento deste trabalho e que apresentaram maior resposta foram $f = 40 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

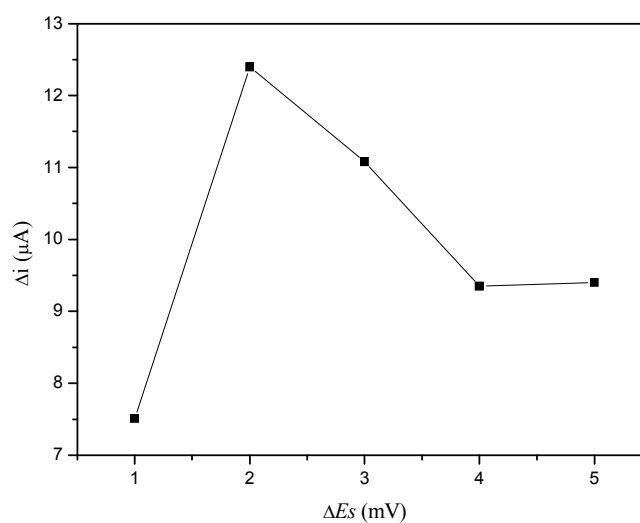


Figura 26. Dependência da corrente de pico com o incremento de varredura para a sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

A tabela 2 mostra as faixas de frequência estudadas (f), altura de pulso (ΔH) e incremento (ΔE_s) da VOQ, para solução de sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e os resultados otimizados.

Tabela 2. Parâmetros de VOQ investigados para a sulfadiazina.

Parâmetros	Faixa	Maior resposta
Frequência - (f) Hz	10 - 70	40
Altura de Pulso - (ΔH) mV	10 - 50	30
Incremento - (ΔE_s) mV	1 - 5	2

4.2.2.5 Curva analítica para a sulfadiazina

Estabelecidas as melhores condições para a determinação da sulfadiazina, a curva analítica foi construída adicionando-se alíquotas de 200 μL da solução padrão de sulfadiazina $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em 20 mL de solução de etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v. A figura 27 mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos variando-se a concentração de sulfadiazina de $2,91 \times 10^{-5}$ a $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A curva analítica pode ser observada na figura 28, a equação da reta obtida foi $\Delta i(\mu\text{A}) = 0,7885 + 1,135 \times 10^5 [\text{sulfadiazina}] \text{ mol L}^{-1}$, com um coeficiente de correlação de 0,9995.

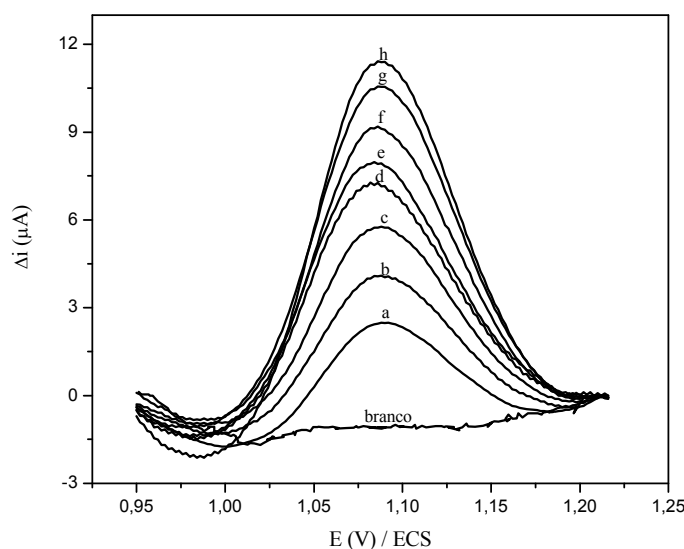


Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada usando o eletrodo não comercial BDD para a sulfadiazina nas concentrações de (a) $2,91 \times 10^{-5}$, (b) $3,85 \times 10^{-5}$, (c) $4,76 \times 10^{-5}$, (d) $5,66 \times 10^{-5}$, (e) $6,54 \times 10^{-5}$, (f) $7,41 \times 10^{-5}$, (g) $8,26 \times 10^{-5}$ e (h) $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 40 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Observando-se a figura 27, constata-se que a corrente de pico aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração e o potencial de pico praticamente não se deslocou com o aumento da concentração. Para a determinação do limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) utilizou-se as seguintes relações:

$$LD = 3S_b/B \quad (1)$$

$$LQ = 10S_b/B \quad (2)$$

Onde o S_b é o desvio padrão do intercepto e B o valor do coeficiente angular da curva analítica. O LD e o LQ obtidos para a sulfadiazina no intervalo de concentração estudado foram de $2,51 \times 10^{-6}$ e $8,38 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. Msagati e Ngila¹⁸ obtiveram um limite de detecção para a sulfadiazina de $4,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ também através da VOQ, mas utilizando eletrodo de CV modificado com o polímero poli(3-metiltiofeno). Carrazon e colaboradores²³, obtiveram para a sulfadiazina um limite de detecção de $5,4 \times 10^{-6}$ e $1,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ através da voltametria de pulso diferencial e da voltametria linear, respectivamente, com o eletrodo de CV.

Estes resultados mostraram que o método proposto provou ter uma sensibilidade de detecção bastante semelhante à outros métodos voltamétricos, podendo desta maneira ser utilizado para os mesmos fins.

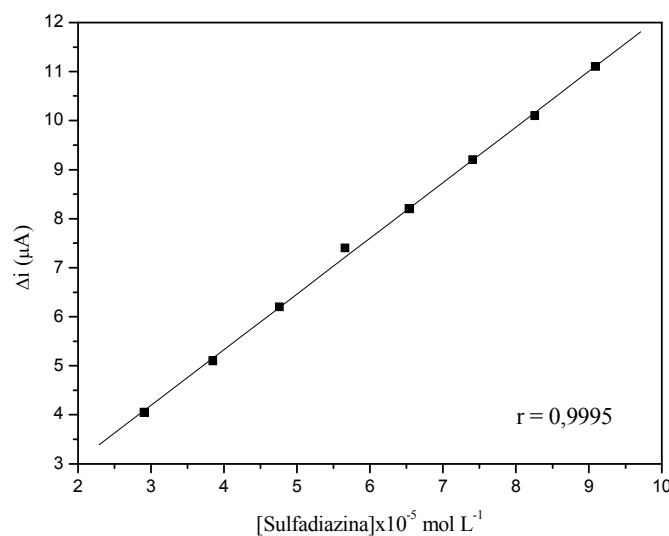


Figura 28. Curva analítica obtida para a sulfadiazina em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v.

4.2.2.6 Estudo de repetibilidade

A repetibilidade representa a concordância entre os resultados de medidas sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições, ou seja, mesmo procedimento, analista, instrumento e local.⁷¹

A repetibilidade do eletrodo não comercial BDD foi estudada empregando solução padrão de sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v. A repetibilidade foi feita a partir de sete medidas sucessivas da corrente de oxidação com o eletrodo imerso na mesma solução de sulfadiazina. Foi encontrada uma variação de $10,32 \pm 0,06 \mu\text{A}$ com um desvio padrão relativo (DPR) de 0,559 %, Foi observada uma pequena variação nos valores do potencial, no entanto, isto não comprometeu a definição e resolução dos picos. Os resultados são mostrados na tabela 3.

Portanto, os resultados referentes ao estudo da repetibilidade na oxidação da sulfadiazina sobre o eletrodo não comercial BDD, indicaram a viabilidade da utilização da VOQ e do eletrodo não comercial BDD para o desenvolvimento da metodologia.

Tabela 3. Repetibilidade das correntes medidas no potencial de oxidação para a sulfadiazina $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 40 \text{ Hz}$, $\Delta H = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com o eletrodo não comercial BDD.

Replicatas	$\Delta i (\mu\text{A})$	E (V)
1	10,26	1,085
2	10,25	1,086
3	10,36	1,090
4	10,37	1,092
5	10,23	1,086
6	10,40	1,089
7	10,39	1,084
Média (μA)	$10,32 \pm 0,06$	$1,087 \pm 0,0207$
DPR (%)	0,559	1,904

4.2.2.7 Determinação da sulfadiazina em formulação farmacêutica e comparação com o método oficial

Com o objetivo de avaliar o desempenho do método proposto, determinou-se a sulfadiazina em uma amostra de produto farmacêutico adquirido no comércio da região de Florianópolis – SC.

Na tabela 4 encontram-se os resultados obtidos para a determinação de sulfadiazina em uma amostra de produto farmacêutico pelo método proposto e pelo método oficial (recomendado pela farmacopéia americana - anexo). Observa-se que o resultado obtido pelo método proposto empregando a VOQ e o eletrodo não comercial BDD está em concordância com o resultado obtido através do método oficial, a um nível de confiança de 95 % e dentro do intervalo de erro aceitável. Desta forma, o método proposto mostrou-se simples, rápido e eficiente podendo ser utilizado para a determinação de sulfadiazina em produtos farmacêuticos.

Tabela 4. Determinação da sulfadiazina* (mg) em produto farmacêutico.

Amostra	Valor rotulado	Método oficial	Eletrodo BDD	Erro Relativo (%)	
				Er ₁	Er ₂
Suladrin [®]	500	515,00	492,80 ± 0,07	-1,44	-4,31

*n = 3 - Er₁ = Eletrodo BDD vs valor rotulado - Er₂ = Eletrodo BDD vs método oficial

4.2.2.8 Estudo de recuperação

O estudo de recuperação em amostra de produto farmacêutico contendo a sulfadiazina pode fornecer informações da influência de possíveis interferentes existentes na matriz do produto sobre o procedimento proposto. Para este estudo foram feitos experimentos em triplicata com uma amostra do produto farmacêutico Suladrin[®] (sulfadiazina 500 mg) e utilizando a VOQ; por meio da adição de alíquotas da solução padrão de sulfadiazina à solução da amostra, seguido da determinação e cálculo de percentagem de recuperação. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 5. Os

valores de recuperação variaram de 95 a 104%. Estes valores indicam que não houve interferência da matriz na determinação de sulfadiazina pelo método proposto.

Tabela 5. Estudo de recuperação da sulfadiazina em produto farmacêutico.

Amostra	Sulfadiazina (10^{-5} mol L $^{-1}$)		
	Adicionado*	Encontrado	Recuperado (%)
Suladrin [®]	0,96	1,00	104
	1,90	1,98	104
	2,84	2,79	98
	3,74	3,56	95

*n = 3

4.2.3 Estudos com a sulfametoxazol

4.2.3.1 Comportamento voltamétrico da sulfametoxazol e trimetoprima

O comportamento eletroquímico da sulfametoxazol foi estudado com o eletrodo não comercial BDD em etanol//H₂SO₄ 0,5 mol L $^{-1}$ 50/50 v/v. Na figura 29 observa-se o voltamograma cíclico da sulfametoxazol e da trimetoprima, após uma variação de potencial positiva de -0,2 a +1,6 V/ECS, seguida da variação de potencial negativa de +1,6 a -0,2 V/ECS.

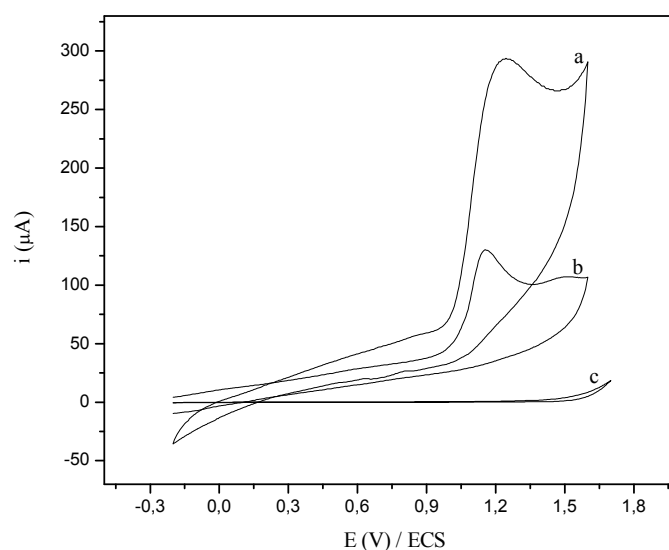


Figura 29. Voltamogramas cíclicos (a) trimetoprima $3,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (b) sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (c) branco, $v = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.

Sob as condições experimentais descritas acima, na figura 29 é possível observar que a sulfametoxazol apresentou somente um pico de oxidação irreversível, em +1,2 V/ECS e a trimetoprima apresentou um pico de oxidação irreversível em aproximadamente +1,2 V/ECS, próximo ao potencial de oxidação da sulfametoxazol. Como um dos objetivos do trabalho é determinar a sulfametoxazol na presença da trimetoprima, uma separação de ambos os picos é necessária, uma vez que os dois compostos se encontram associados por motivos já descritos anteriormente.

Com o objetivo de separar os picos de oxidação da trimetoprima e sulfametoxazol foram feitos estudos em diferentes pHs. Uma separação foi observada em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v em pH 6,0, como mostrado na figura 30, onde são apresentados os voltamogramas cíclicos para (a) sulfametoxazol e (b) trimetoprima em pH 2,5; 6,0 e 10,5. Como é possível observar, na solução com pH 2,5 os picos se sobrepõem, desta forma não seria possível a determinação de sulfametoxazol na presença de trimetoprima neste valor de pH e na solução de pH 10,5 observa-se que a definição do pico de oxidação da sulfametoxazol ficou comprometida. Um fato que pode explicar isso é a desprotonação do grupo *p*-amino ($-\text{NH}_2$), pois esta etapa é requerida antes do processo de oxidação das sulfas.²²

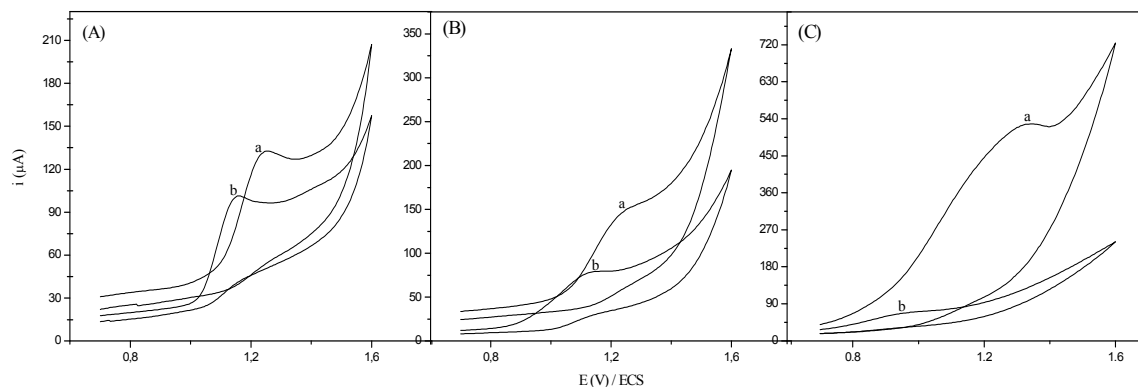


Figura 30. Voltamogramas cíclicos da (a) trimetoprima e (b) sulfametoxazol ambos $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v em (A) pH 2,5; (B) pH 6,0 e (C) pH 10,5; $\nu = 75 \text{ mV s}^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.

Como ocorreu separação dos picos da sulfametoxazol e da trimetoprima em pH 6,0 em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, foram realizados estudos de VOQ com o comprimido de sulfametoxazol + trimetoprima em pH próximo a 6.

Na figura 31 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada do comprimido em (a) para a sulfametoxazol $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ + trimetoprima e (b) após a adição de $100 \mu\text{L}$ de uma solução estoque de sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de etanol/tampão fosfato 50/50 v/v; pH 5,7 com o eletrodo não comercial BDD. Como pode ser observado, os voltamogramas apresentam dois picos de oxidação, o que evidencia que ocorreu a separação dos picos da sulfametoxazol e trimetoprima em pH 5,7. Além disso, o pico em $+0,98 \text{ V/ECS}$ aumentou na presença da solução padrão de sulfametoxazol adicionada, caracterizando o pico em $+0,98 \text{ V/ECS}$ como da sulfametoxazol e usado como resposta analítica para a determinação da sulfa na presença da trimetoprima.

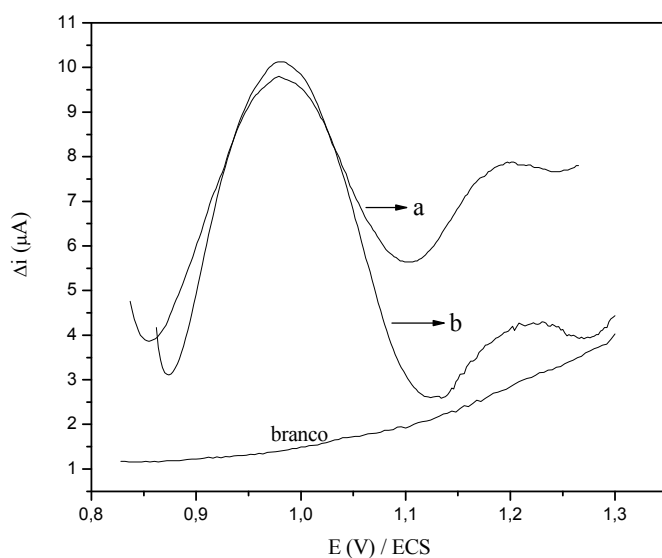


Figura 31. Voltamogramas de onda quadrada do comprimido (a) de sulfametoxazol $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ + trimetoprima e (b) após a adição de $100 \mu\text{L}$ de uma solução estoque $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de sulfametoxazol, em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 10 \text{ Hz}$, $\Delta H = 20 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com o eletrodo não comercial BDD.

4.2.3.2 Influência da velocidade de variação de potencial (v)

A natureza do processo eletródico foi caracterizada sobre a superfície do eletrodo não comercial BDD, através da influência da velocidade de varredura de potencial.

A figura 32 mostra a influência da velocidade de variação de potencial ($10, 20, 30, 50, 75$ e 100 mV s^{-1}) sobre o perfil voltamétrico da sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com eletrodo não comercial BDD.

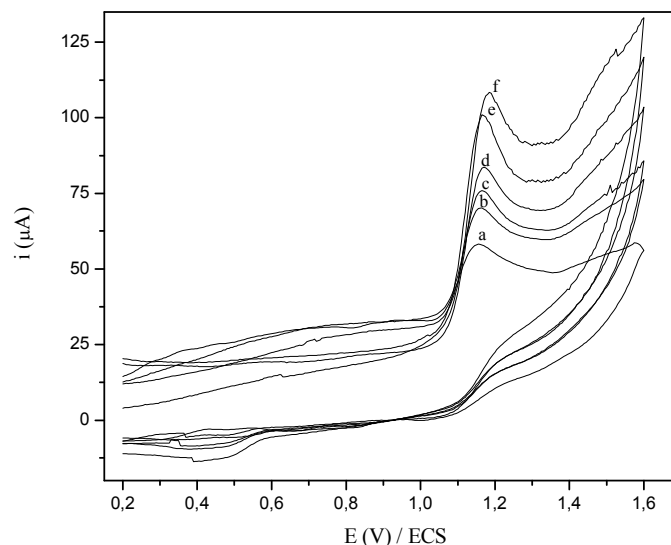
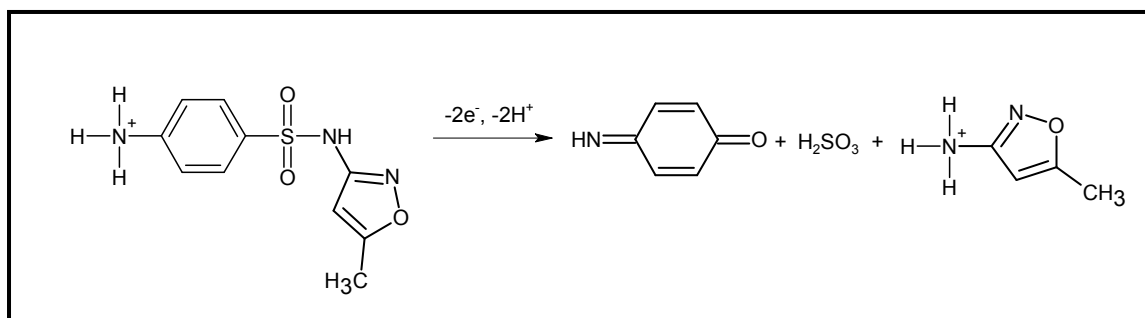


Figura 32. Voltamogramas cíclicos da sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3}$ mol L $^{-1}$ em etanol/H $_2$ SO $_4$ 0,5 mol L $^{-1}$ 50/50 v/v para diferentes velocidades de variação de potencial (v): 10, 20, 30, 50, 75 e 100 mV s $^{-1}$ com o eletrodo não comercial BDD.

Nos voltamogramas mostrados acima é possível observar que o aumento de v provocou um aumento significativo nos valores das respectivas densidades de corrente de pico. A figura 34 mostra o gráfico de potencial de pico anódico (E_{pa}) em função da velocidade de variação de potencial (v : 10, 20, 30, 50, 75 e 100 mV s $^{-1}$) para a sulfametoxazol, onde é possível observar que os valores de E_{pa} deslocaram-se para valores mais positivos conforme v aumentou, caracterizando que o processo associado à oxidação da sulfametoxazol é irreversível.

Baseando-se em estudos descritos na literatura²² para o processo de oxidação das sulfonamidas e levando em consideração que o processo de oxidação da sulfametoxazol envolve a transferência de dois elétrons e dois prótons é proposto um esquema de oxidação para a sulfametoxazol em meio ácido como mostrado na figura 33.

Figura 33. Esquema de oxidação da sulfametoxazol.



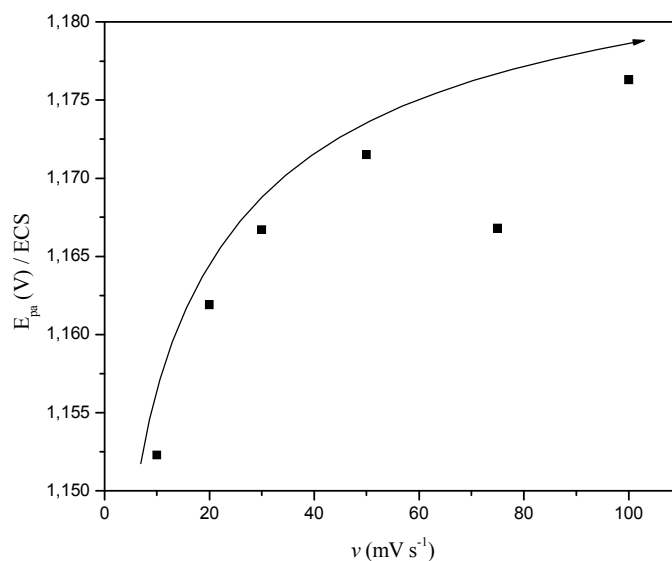


Figura 34. Influência de ν sobre E_{pa} para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

A figura 35 mostra a variação $\log i$ em função de $\log \nu$ para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v.

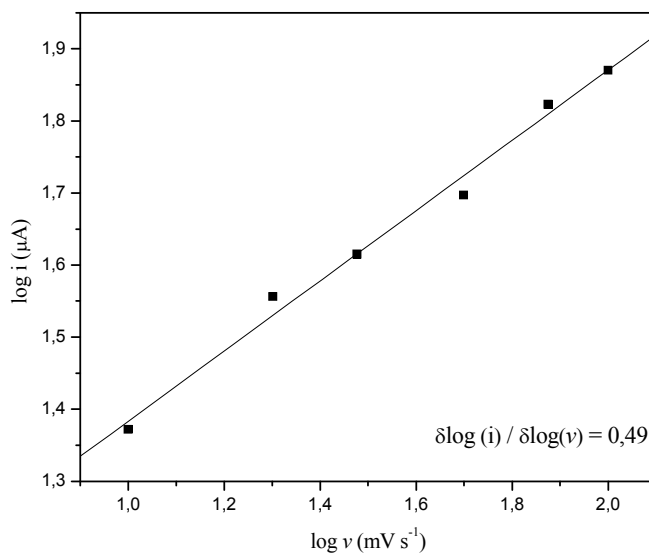


Figura 35. Variação do $\log i$ com o $\log \nu$ para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

A figura 36 mostra a variação da corrente de pico (i) em função de $v^{1/2}$ para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v.

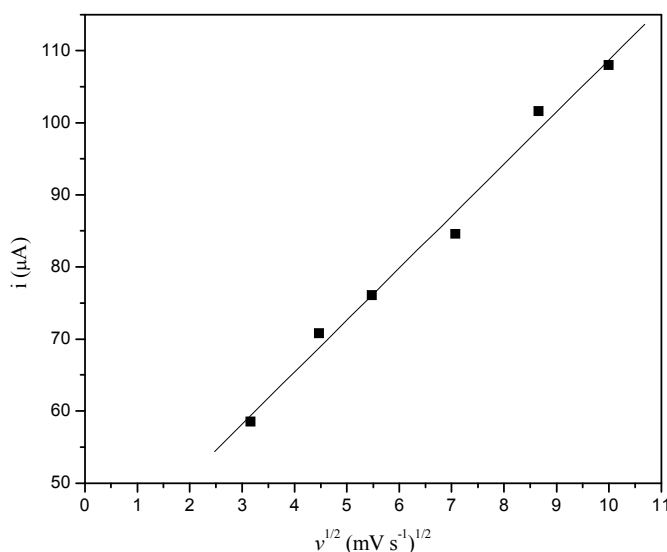


Figura 36. Variação de i com $v^{1/2}$ para a sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

Na figura 35 observa-se que o gráfico de $\log i$ em função de $\log v$ apresenta um comportamento linear, sendo $\delta \log(i)/\delta \log(v) = 0,49$. Além disso, na figura 36, verifica-se que a corrente de pico anódica (i) aumenta linearmente em função de $v^{1/2}$. Estes dois fatores indicam que o processo eletródico sobre a superfície do eletrodo não comercial BDD é controlado por difusão das espécies do seio da solução até a superfície do eletrodo não comercial BDD.

4.2.3.3 Influência do pH da solução

A influência do pH para o processo de oxidação da sulfametoxazol foi estudada em solução fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em três valores de pH (2,5; 6,9 e 10,5). Na figura 37 são apresentados os voltamogramas cíclicos para a sulfametoxazol $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/solução fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v; $v = 75 \text{ mV s}^{-1}$ para pH 2,5; 6,9 e 10,5 com o eletrodo não comercial BDD.

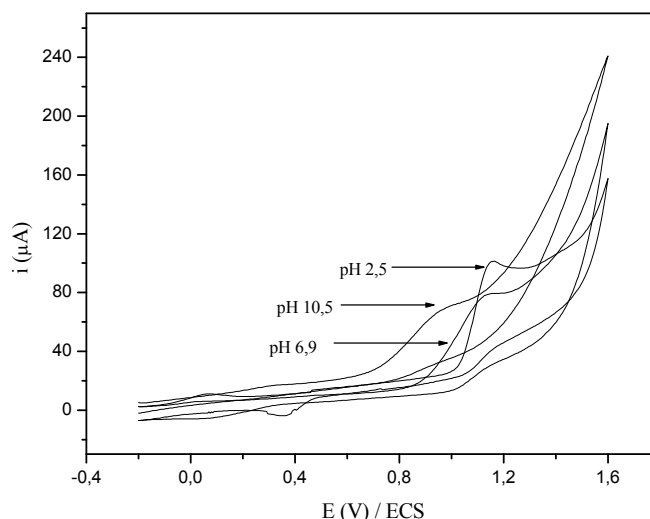


Figura 37. Voltamogramas cíclicos da sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em etanol/solução fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v com pH 2,5; 6,9 e 10,5; $\nu = 75$ mV s⁻¹ com o eletrodo não comercial BDD.

Nos voltamogramas mostrados foi possível observar que o potencial de pico anódico se desloca para valores menores de potencial a medida que o pH aumenta. O mesmo comportamento foi observado para a sulfadiazina. O maior valor da corrente de pico foi observado em pH ácido. Estes fatos já eram esperados devido ao envolvimento de íons H_3O^+ no processo de oxidação da sulfametoxazol, evidenciando o processo como dependente do pH do meio.

4.2.3.4 Otimização dos parâmetros para voltametria de onda quadrada (VOQ)

Como já citado anteriormente, no desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica é de extrema importância a otimização dos parâmetros que possam influenciar na resposta do eletrodo. Portanto, foi realizado o estudo dos parâmetros da VOQ, como frequência (f), altura de pulso (ΔH ; $a = \Delta H/2$) e incremento de varredura (ΔE_s), buscando, desta forma, o maior sinal analítico do eletrodo não comercial BDD.

As figuras 38 e 39 mostram a variação da corrente de pico (i) em função da frequência e do incremento de varredura, respectivamente para a sulfametoxazol (A) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (B) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, pH 5,7.

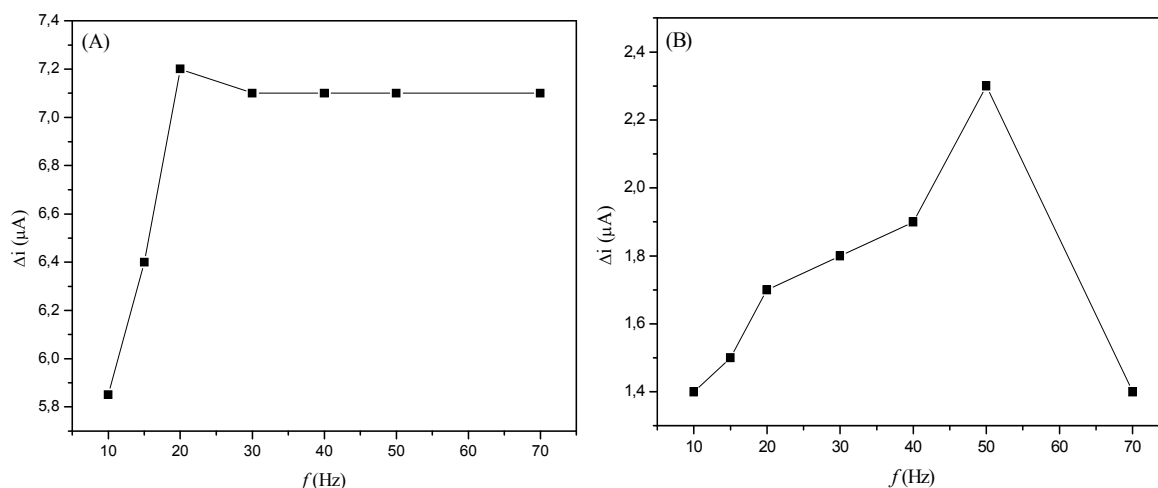


Figura 38. Dependência da corrente de pico com a frequência para a sulfametoxazol (A) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (B) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

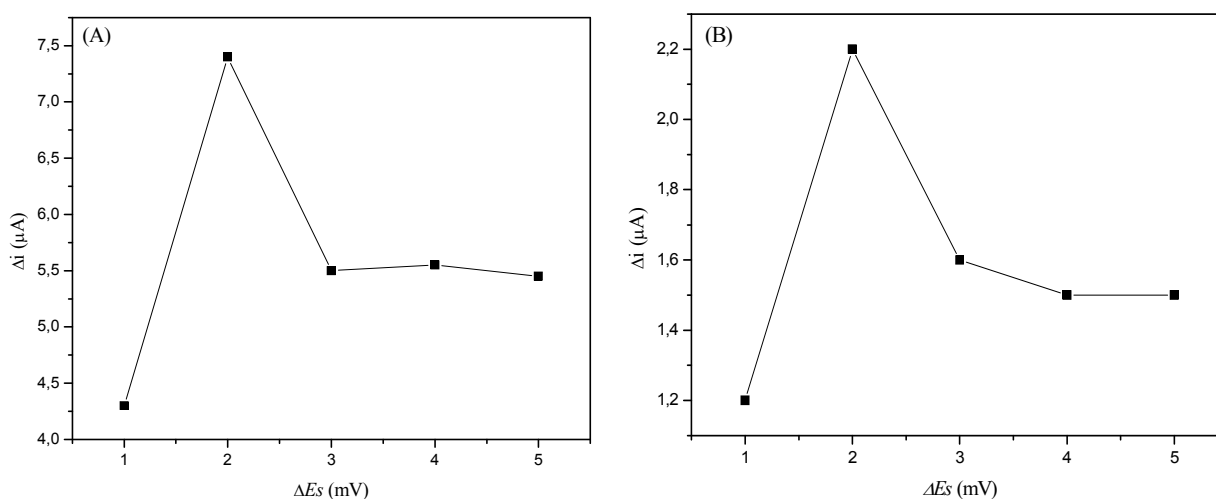


Figura 39. Dependência da corrente de pico com o incremento de varredura para a sulfametoxazol (A) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v e (B) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v com o eletrodo não comercial BDD.

Na figura 38 observa-se o estudo da frequência na faixa de 10 a 70 Hz, nota-se que há um aumento da corrente de pico até 20 Hz quando se utilizou o eletrólito suporte etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e um aumento até 50 Hz quando se utilizou o eletrólito suporte etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹, decrescendo para ambos eletrólitos suporte em frequências superiores. A frequência de 20 Hz e 50 Hz foram então selecionadas para os estudos posteriores. Em seguida, avaliou-se a influência da altura de pulso na faixa de 10 a 50 mV, nas mesmas condições experimentais. Optou-se por trabalhar com altura de pulso de 10 mV no eletrólito suporte etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e 20 mV no eletrólito suporte etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹, pois para valores de altura de pulso acima dos valores mencionados os voltamogramas apresentaram ruídos, dificultando a leitura da corrente de pico (gráfico não apresentado). Finalmente, avaliou-se o efeito do incremento de varredura na faixa de 1 a 5 mV (figura 39), nas condições selecionadas, onde observou-se uma maior corrente de pico em 2 mV para ambos eletrólitos suporte. Os valores selecionados para o desenvolvimento deste trabalho e que apresentaram maior resposta foram $f = 20$ Hz, $\Delta H = 10$ mV e $\Delta Es = 2$ mV para o eletrólito suporte etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e $f = 50$ Hz, $\Delta H = 20$ mV e $\Delta Es = 2$ mV para o eletrólito suporte etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹.

A tabela 6 mostra as faixas estudadas de frequência (f), altura de pulso (ΔH) e incremento (ΔEs), em soluções de sulfametoxazol (A) $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v e (B) $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v e os resultados otimizados para VOQ.

Tabela 6. Parâmetros de VOQ investigados para a sulfametoxazol.

Parâmetros	Faixa	Maior resposta	
		A	B
Frequência - (f) Hz	10 - 70	20	50
Altura de Pulso - (ΔH) mV	10 - 50	10	20
Incremento - (ΔEs) mV	1 - 5	2	2

4.2.3.5 Curva analítica para a sulfametoxazol

Usando as melhores condições experimentais de trabalho, duas curvas analíticas foram construídas uma em solução etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v e outra em solução de etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v pH 5,7, pela adição de alíquotas da solução padrão de sulfametoxazol 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ em 20 mL das soluções em estudo. Primeiro foi construída a curva analítica em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹, mas devido a impossibilidade de determinar a sulfametoxazol na presença de trimetoprima neste eletrólito suporte, optou-se por construir outra curva analítica em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ pH 5,7, onde foi possível determinar a sulfametoxazol na presença de trimetoprima. A figura 40 (A) apresenta os voltamogramas de onda quadrada para as diferentes concentrações de sulfametoxazol que variaram de 9,9x10⁻⁵ a 6,54x10⁻⁴ mol L⁻¹ em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e (B) apresenta os voltamogramas de onda quadrada para as diferentes concentrações de sulfametoxazol que variaram de 1,48x10⁻⁵ a 6,67x10⁻⁵ mol L⁻¹ em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹. As curvas analíticas obtidas podem ser observadas na figura 41 (A) e (B); o coeficiente de correlação obtido foi de 0,9954 e 0,9967 a equação da reta obtida foi $\Delta i(\mu A) = 2,953 + 1,448 \times 10^4 [\text{sulfametoxazol}] \text{ mol L}^{-1}$ e $\Delta i(\mu A) = -0,0136 + 0,534 \times 10^5 [\text{sulfametoxazol}] \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹.

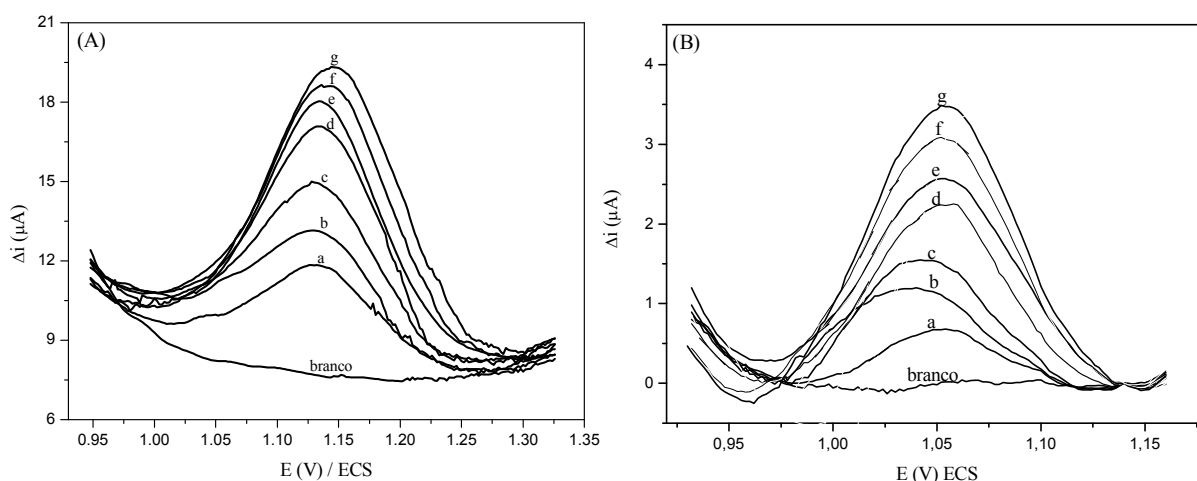


Figura 40. Voltamogramas de onda quadrada usando o eletrodo não comercial BDD para a sulfametoxazol em (A) nas concentrações de (a) $9,90 \times 10^{-5}$, (b) $1,96 \times 10^{-4}$, (c) $2,91 \times 10^{-4}$, (d) $3,85 \times 10^{-4}$, (e) $4,76 \times 10^{-4}$, (f) $5,66 \times 10^{-4}$ e (g) $6,54 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 (v/v), $f = 10$ Hz, $\Delta H = 10$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV e (B) nas concentrações de (a) $1,48 \times 10^{-5}$, (b) $1,97 \times 10^{-5}$, (c) $2,94 \times 10^{-5}$, (d) $3,88 \times 10^{-5}$, (e) $4,81 \times 10^{-5}$, (f) $5,71 \times 10^{-5}$ e (g) $6,67 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em etanol/solução fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 (v/v) pH 5,7, $f = 50$ Hz, $\Delta H = 20$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV.

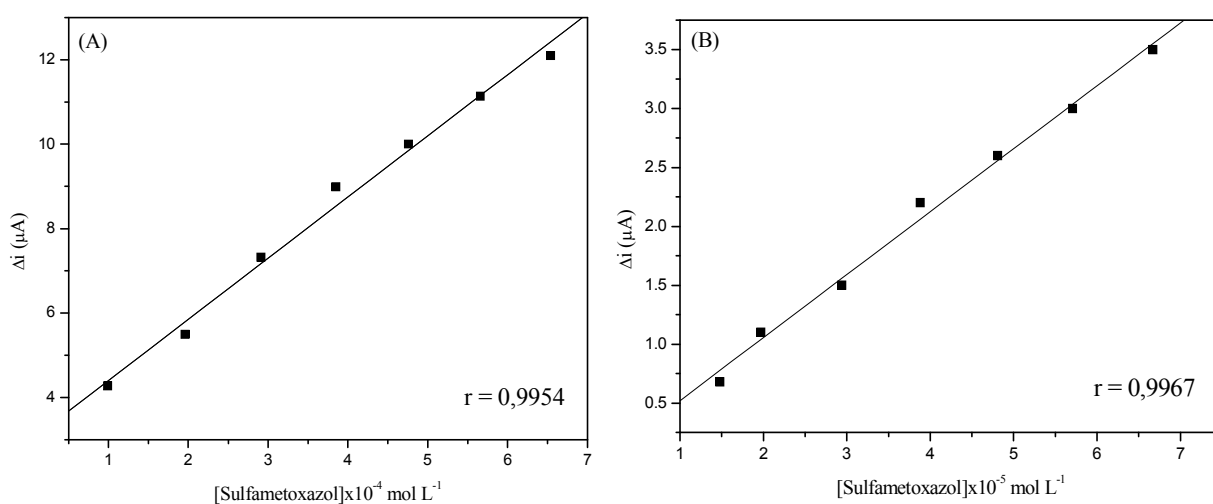


Figura 41. Curva analítica para a sulfametoxazol em (A) etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 (v/v) e (B) etanol/solução fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 (v/v) pH 5,7.

Os limites de detecção e os limites de quantificação foram calculados empregando-se as equações (1) e (2), respectivamente. Os LD obtidos para a sulfametoxazol nos intervalos de concentrações estudados foram de $2,95 \times 10^{-5}$ e $2,52 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e os LQ foram $9,80 \times 10^{-4}$ e $8,40 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente em solução de etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v e em solução de etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v pH 5,7. A redução da sulfametoxazol foi investigada por Koutocek e colaboradores²⁰, conseguindo-se obter limites de detecção de 56,1 e 8,4 ng mL⁻¹ através da voltametria de redissolução adsortiva e voltametria de pulso diferencial, respectivamente, com o eletrodo de mercúrio. Além disso, Msagati e Ngila¹⁸ obtiveram para a sulfametoxazol um limite de detecção de $6,4 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ através da VOQ utilizando eletrodo de CV modificado com polímero poli(3-metiltiofeno).

Estes limites de detecção estão abaixo dos encontrados com o eletrodo não comercial BDD e a técnica de VOQ, porém isto não inviabiliza o uso do método proposto para a determinação de sulfametoxazol em formulações farmacêuticas, já que estas normalmente apresentam massa na ordem de miligramas do princípio ativo.

4.2.3.6 Estudo de repetibilidade

No estudo de repetibilidade do eletrodo não comercial BDD para a sulfametoxazol foram feitas sete medidas sucessivas da corrente de oxidação com o eletrodo imerso na solução de sulfametoxazol $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Foi encontrado uma variação de $6,33 \pm 0,07$ µA com desvio padrão relativo (DPR) de 1,035 % e foram verificadas pequenas variações nos valores do potencial, mas isto não comprometeu a definição e resolução dos picos. Os resultados são mostrados na tabela 7.

Os resultados do estudo de repetibilidade para a oxidação da sulfametoxazol sobre o eletrodo não comercial BDD, indicaram a viabilidade da utilização da VOQ e o eletrodo não comercial BDD para o desenvolvimento da metodologia.

Tabela 7. Repetibilidade das correntes medidas no potencial de oxidação para a sulfametoxazol $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol/ H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 v/v, $f = 20 \text{ Hz}$, $\Delta H = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com o eletrodo não comercial BDD.

Replicatas	Δi (μA)	E (V)
1	6,27	1,131
2	6,26	1,136
3	6,37	1,139
4	6,38	1,134
5	6,25	1,140
6	6,41	1,132
7	6,40	1,142
Média (μA)	$6,33 \pm 0,07$	$1,136 \pm 0,0535$
DPR (%)	1,035	4,709

4.2.3.7 Determinação da sulfametoxazol em formulação farmacêutica e comparação com o método oficial

Com o objetivo de avaliar o desempenho do método proposto, determinou-se sulfametoxazol em uma amostra de produto farmacêutico adquirido no comércio da região de Florianópolis – SC. O comprimido era composto de 400 mg de sulfametoxazol + 80 mg de trimetoprima.

A tabela 8 traz os resultados obtidos para a determinação de sulfametoxazol em uma amostra de produto farmacêutico pelo método proposto e pelo método oficial (recomendado pela farmacopéia americana - anexo). Como pode ser observado o resultado obtido pelo método proposto empregando a VOQ e o eletrodo não comercial BDD está em concordância com o resultado obtido através do método oficial, a um nível de confiança de 95% e dentro do intervalo de erro aceitável, indicando que o

método proposto pode ser utilizado para a determinação de sulfametoxazol em produtos farmacêuticos.

Tabela 8. Determinação da sulfametoxazol* (mg) em produto farmacêutico.

Amostra	Valor rotulado	Método oficial	Eletrodo BDD	Erro Relativo (%)	
				Er ₁	Er ₂
Genéricos Teuto [®]	400	428,00	424,61 ± 0,06	6,15	- 0,79

*n = 3 - Er₁ = Eletrodo BDD vs valor rotulado - Er₂ = Eletrodo BDD vs método oficial

4.2.3.8 Estudo de recuperação

O estudo de recuperação foi feito em uma amostra do produto farmacêutico Genéricos Teuto[®] (sulfametoxazol 400mg + trimetoprima 80mg) em etanol/tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ 50/50 v/v, os experimentos foram feitos em triplicata através da adição de solução padrão de sulfametoxazol à solução da amostra do produto farmacêutico contendo a sulfametoxazol. A tabela 9 apresenta os resultados de recuperação obtidos. Observa-se que os valores de recuperação variaram de 98 a 103 %, evidenciando que não ocorre a interferência da matriz no método proposto.

Tabela 9. Estudo de recuperação da sulfametoxazol em produto farmacêutico.

Amostra	Sulfametoxazol (10 ⁻⁵ mol L ⁻¹)		
	Adicionado*	Encontrado	Recuperado (%)
Genéricos Teuto [®]	0,97	1,00	103
	1,90	1,87	98
	2,80	2,80	100

*n = 3

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho descreve a aplicação com sucesso de uma técnica eletroanalítica para a determinação de sulfadiazina e sulfametoxazol em formulações farmacêuticas. O eletrodo não comercial BDD juntamente com a técnica de VOQ apresentou bons resultados no que diz respeito à sensibilidade e a tempo de análise, ficando evidente o seu uso em análises de fármacos que contenham sulfonamidas. Contudo, o eletrodo comercial BDD com baixo teor de boro não apresentou bons resultados no que diz respeito a reprodutibilidade, o que inviabiliza o seu uso para determinações eletroanalíticas, isso após vários experimentos com diferentes tipos de pré-tratamento existentes.

Os melhores resultados analíticos com o eletrodo não comercial BDD foram obtidos em etanol/H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ 50/50 v/v. As sulfonamidas nestas condições apresentaram um pico de oxidação em aproximadamente +1,1V/ECS, com características de processo irreversível, contudo a determinação da sulfametoxazol não pôde ser feita neste eletrólito, uma vez que a trimetoprima também apresentou um pico de oxidação muito próximo neste eletrólito. Estudos de pH possibilitaram a separação dos picos de oxidação da sulfametoxazol e trimetoprima e também a determinação em etanol/tampão fosfato 50/50 v/v em pH 5,7.

O limite de detecção foi de $2,51 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para sulfadiazina e para a sulfametoxazol foram $2,95 \times 10^{-5}$ e $2,52 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. O método proposto apresentou boa repetibilidade; 0,559% para a sulfadiazina e 1,035% para a sulfametoxazol. O estudo de recuperação da sulfadiazina variou de 95 a 104% e da sulfametoxazol de 98 a 103% e os resultados obtidos através do método proposto para as sulfas em formulações farmacêuticas estão em concordância com os valores obtidos através do método oficial recomendado pela farmacopéia americana.

Os resultados obtidos neste trabalho viabilizam o uso do eletrodo não comercial BDD na determinação de produtos farmacêuticos contendo sulfonamidas como um método alternativo ao método oficial.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Korolkovas, A.; Burckhalter, J.H.; *Química Farmacêutica*, Editora Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, **1988**, 547-559.
2. Rang, H. P.; Dale, M. M.; *Farmacologia*, Editora Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, **2001**, 578-579.
3. Katzung, B. G.; *Farmacologia Básica e Clínica*, Editora Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, **1995**, 546-550.
4. Anand, N.; *Burger's Medicinal Chemistry and Drugs Discovery*, Vol. 2, John Wiley & Sons, Inc, **1996**, 527-566.
5. *United States Pharmacopeia National Formulary XXXIII*, USP Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, **1995**.
6. Kennedy, D.G.; McCracken, R.J.; Cannavan, A.; Hewitt S.A.; *J. Chromatogr. A* **1998**, 812, 77.
7. Furusawa, N.; Kishida, K.; *J. Anal. Chem.* **2001**, 371, 1031.
8. Koesukwiwat, U.; Jayanta, S.; Leepipatpiboon, N.; *J. Chromatogr. A* **2007**, 1140, 147.
9. Feltrin, C. W.; Mello, A. M. S.; Santos, J. G. R.; Marques, M. V.; Seibel, N. M.; Fontoura, L. A. M.; *Quim. Nova* **2007**, 30, 80.
10. Coque, M. C. G. A.; Simo-Alfonso, E. F.; Ramis-Ramos, G.; Esteves-Romero, J. S.; *J. Pharm. Biom. Anal.* **1995**, 13, 237.
11. Takeda, N.; Akiyama, Y.; *J. Chromatogr. A* **1991**, 558, 175.
12. Von Baer, D.; Momberg, A.; Carrera, M. E.; Arriagada, R.; Smyth, M. R.; *J. Pharm. Biom. Anal.* **1991**, 9, 925.
13. Amini, H.; Ahmadiani, A.; *J. Pharm. Biom. Anal.* **2007**, 43, 1146.
14. Botitsi, E.; Frosyni, C.; Tsipi, D.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 387, 1317.
15. Rao, T. N.; Sarada, B. V.; Tryk, D. A.; Fujishima, A.; *J. Electroanal. Chem.* **2000**, 491, 175.
16. Preechaworapun, A.; Chuanuwatanakul, S.; Einaga, Y.; Grudpan, K.; Motomizu, S.; Chailapakul, O.; *Talanta* **2006**, 68, 1726.
17. Voorhies, J. D.; Adams, R. N.; *Anal. Chem.* **1958**, 30, 346.
18. Msagati, T. A. M.; Ngila, J. C.; *Talanta* **2002**, 58, 605.
19. Diaz, T. G.; Cabanillas, A. G.; Valenzuela, M. I. A.; *Analyst* **1996**, 121, 547.

-
20. Kotoucek, M.; Skopalova, J.; Michalkova, D.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, 353, 61.
 21. Sabry, S. M.; *Anal. Lett.* **2007**, 40, 233.
 22. Momberg A. V.; Maria, E.; Carrera, B.; Dietrich, V. B.; Carls, B.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 159, 119.
 23. Carrazon, J. M. P.; Corona, P. C.; Diez, L. M. P.; *Electrochim. Acta* **1987**, 32, 1573.
 24. Carrazon, J. M. P.; Recio, A. D.; Diez, L. M. P.; *Talanta* **1992**, 39, 631.
 25. Pleskov, Y. V.; Sakharova, A. Y.; Krotova, M. D.; Bouilov, L. L.; Spitsyn, B. V.; *J. Electroanal. Chem.* **1987**, 228, 19.
 26. Burton, C.V.; *Nature* **1905**, 72, 397.
 27. Bundy, F. P.; *J. Chem. Phys.*, **1963**, 38, 631.
 28. Poferl, D. J.; Gardner, N. C.; Angus, J. C.; *J. Appl. Phys.* **1973**, 44, 1428.
 29. Silva, L. L. G.; Franco, M. K.; Yokaichiya, F.; Ferreira, N. G.; Corat, E. J.; *Diamond Relat. Mater.* **2002**, 11, 153.
 30. Ferreira, N. G.; Silva, L. L. G.; Corat, E. J.; Trava-Airoldi, V. J.; *Diamond Relat. Mater.* **2002**, 11, 1523.
 31. Xu, J.; Granger, M. C.; Chen, Q.; Strojek, J. W.; Lister, T. E.; Swain, G. M. ; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 591A.
 32. Tenne, R.; Clement, C. L.; *Isr. J. Chem.* **1998**, 38, 57.
 33. Martin, H. B.; Argoitia, A.; Angus, J. C.; Landau, U.; *J. Electrochem. Soc.* **1999**, 146, 2959.
 34. Alfaro, M. A. Q.; Ferro, S.; Huitle, C. A. M.; Vong, Y. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, 17, 227.
 35. Swain, G. M.; Rameshan, R.; *Anal. Chem.* **1993**, 65, 345.
 36. Perret, A.; Haenni, W.; Niedermann, P.; Skinner, N.; Comminellis, C.; Gandini, D.; *Proc. Electrochem. Soc.* **1998**, 97, 275.
 37. Sarada, B. V.; Rao, T. N.; Tryk, D. A.; Fujishima, A.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 1632.
 38. Zak, J.; Kolodziej-Sadlok, M.; *Electrochim. Acta* **2000**, 45, 2803.
 39. Ferro, S.; Battisti, A.; Duo, I.; Comninellis, C.; Haenni, W.; Perret, A.; *J. Electrochem. Soc.* **2000**, 147, 2614.
 40. Hagans, P. L.; Natishan, P. M.; Stoner, B. R.; O'Grady, W. E.; *J. Electrochem. Soc.* **2001**, 148, E2298.
 41. Terashima, C.; Rao, T. N.; Sarada, B. V.; Kubota, Y.; Fujishima, A.; *Anal. Chem.* **2003**, 75, 1564.

-
42. Rodrigo, M. A.; Michaud, P. A.; Duo, I.; Panizza, P.; Cerisola, G.; Comninellis, C.; *J. Electrochem. Soc.* **2001**, 148, D60.
43. Gherardini, L.; Michaud, P. A.; Panizza, M.; Comninellis, C.; Vatistas, N.; *J. Electrochem. Soc.* **2001**, 148, D78.
44. Polcaro, A. M.; Vacca, A.; Palmas S.; Masciaaa, M.; *J. Appl. Electrochem.* **2003**, 33, 885.
45. Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Machado, A. S.; Avaca, L. A.; *J. Electroanal. Chem.* **2004**, 573, 11.
46. Kondo, T.; Einaga, Y.; Sarada, B. V.; Rao, T. N.; Tryk, D. A.; Fujishima, A.; *J. Electrochem. Soc.* **2002**, 149, E179.
47. Hian, L. C.; Grehan, K. J.; Goeting, C. H.; Comptom, R. G.; Foord J. S.; Marken, F.; *Electroanalysis* **2003**, 15, 169.
48. Pedrosa, V. D.; Codognoto L.; Avaca, L. A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14, 530.
49. Barros, R. C. M.; Ribeiro, M. C.; An-Sumodjo, P. T.; Julião, M. S. S.; Serrano, S. H. P.; Ferreira, N. G.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 317.
50. Fryda, M.; Herrmann, D.; Schafer, L.; Klages, C. P.; Perret, A.; Haenni, W.; Comninellis, Ch.; Gandini, D.; *New Diamond Front. Carbon Technol.* **1999**, 9, 229.
51. Mort, J.; Kuhman, D.; Machonkin, M.; Morgan, M.; Jansen, F.; Okumura, K.; Legrice, Y.M.; Nemanich, R.J.; *Appl. Phys. Lett.* **1989**, 55, 1121.
52. Fujimori, N.; Nakahata, H.; Imai, T.; *Jpn. J. Appl. Phys.* **1990**, 29, 824.
53. Codognoto, L.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.; *Diamond Relat. Mater.* **2002**, 11, 1670.
54. Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Avaca, L. A.; *Quim. Nova* **2003**, 26, 844.
55. Pedrosa, V.A.; Codognoto, L.; Avaca, L. A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14, 530.
56. Skoog, D. A.; Holler, J. F.; Niemmam, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental* Bookman, 5ª ed., São Paulo, **2002**.
57. Souza, D.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.; *Quim. Nova* **2003**, 26, 81.
58. Brett, C. M. A.; Brett, A. M. O.; *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*, Oxford, Great Britain, **1993**.
59. Osteryoung, J. G.; O'dea, J. J.; *Em Electroanalytical Chemistry*; Bard, A. J., Marcel Dekker: New York, **1982**.
60. Ramaley, L.; Krause Jr, M. S.; *Anal. Chem.* **1969**, 41, 1362.
61. Ramaley, L.; Krause Jr, M. S.; *Anal. Chem.* **1969**, 41, 1365.
62. Christie, J. H.; Turner, J. A.; Osteryoung, R. A.; *Anal. Chem.* **1977**, 49, 1899.

-
63. Christie, J. H.; Turner, J. A.; Osteryoung, R. A.; *Anal. Chem.* **1977**, 49, 1904.
64. Gandini, D.; Michaud, P.; Duo, I.; Maché, E.; Haenni, W.; Perret, A.; Comninellis, C.; *New Diamond Front. Carbon Technol.* **1999**, 9, 303.
65. Panizza, M.; Michaud, P. A.; Cerisola, G.; Comninellis, Ch.; *J. Electroanal. Chem.* **2001**, 507, 206.
66. Salazar-Banda, G. R.; Andrade, L. S.; Nascente, P.A. P.; Pizani, P.S.; Rocha-Filho, R. C.; Avaca, L. A.; *Electrochim. Acta.* **2006**, 51, 4612.
67. http://www.windsorscientific.co.uk/index.php?page_id=75
68. Agostinho, S. M. L.; Villamil, R. F. V.; Agostinho-Neto, A.; Aranha, H.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 813.
69. Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; *Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons Inc, New York, **1980**.
70. Long, W. J.; Henderson, J. W.; Analysis of sulfas drugs on eclipse plus C18, Application Brief, Agilent Technologies **2006**.
71. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 771.

ANEXOS